

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra kvality a bezpečnosti potravin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Význam proteolytických enzymů v procesu zrání masa

Bakalářská práce

Jana Buchtová

Výživa a potraviny

Vedoucí práce Ing. Daniel Bureš Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Význam proteolytických enzymů v procesu zrání masa" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19.4.2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Danielu Burešovi, Ph.D. za odborné vedení, vstřícnost a spolupráci při konzultacích, které dopomohly ke vzniku této bakalářské práce.

Význam proteolytických enzymů v procesu zrání masa

Souhrn

Proces zrání masa lze obecně označit jako přeměnu svaloviny zvířat v maso. Při tomto procesu dochází k typickým technologickým, organoleptickým, biochemickým a fyzikálním změnám, které jsou u masa vyžadovány a nastávají v mase po porážce zvířete. V současnosti probíhají různé výzkumy, jež se zabývají touto problematikou a naznačují, že zrání masa je složitý děj, při kterém se uplatňují některé endogenní proteázy a mohou zásadním způsobem ovlivnit finální sensorickou kvalitu masa. Mezi tyto proteolytické enzymy lze řadit především kalpainsy, kaspázy, katepsiny či systém proteazom. Tato bakalářská práce se zabývá problematikou významu proteolytických enzymů v procesu zrání masa a jejich úloze při postmortálním křehnutí masa a s tím související faktory, které ovlivňují křehkost během zrání. Samostatná kapitola byla věnována postmortálním změnám v mase po porážce, jelikož dochází k nahrazení aerobních procesů v buňkách svalové tkáně a tím i k nastartování procesu fragmentace dlouhých řetězců bílkovin. Mimo jiné jsou v této práci uvedeny základní charakteristiky svalu, ať už strukturální vlastnosti či jeho biochemické složení. Maso lze považovat za významný zdroj některých makronutrientů, mikronutrientů, ale i stopových prvků, tudíž bylo důležité se v bakalářské práci věnovat i samotnému významu masa v lidské výživě a celkové spotřebě masa ve světě, ale i v České republice.

Klíčová slova: křehkost, postmortální změny, proteolytické enzymy, zrání masa

The importance of proteolytic enzymes in the process of meat ageing

Summary

The aging process of meat can generally be described as the transformation of animal muscle into meat. This process involves the typical technological, organoleptic, biochemical and physical changes required and occurring in meat after slaughter. Various studies are currently underway to address this issue and suggest that meat aging is a complex process in which some endogenous proteases are involved and can have a major impact on the final sensory quality of the meat. These proteolytic enzymes include mainly calpains, caspases, cathepsins and the proteasome system. This bachelor thesis deals with the importance of proteolytic enzymes in the meat aging process and their role in post-mortem meat tenderness and related factors that influence tenderness during aging. A separate chapter was devoted to post-mortem changes in meat after slaughter, as aerobic processes in muscle cells are replaced and thus the process of long chain protein fragmentation is initiated. Among other things, the basic characteristics of muscle, both its structural properties and its biochemical composition, are presented in this work. Meat can be considered as an important source of some macronutrients, micronutrients, but also trace elements, so it was important to address in the bachelor thesis the importance of meat itself in human nutrition and the overall consumption of meat in the world, but also in the Czech Republic.

Keywords: meat aging, post-mortem changes, proteolytic enzymes, tenderness

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce.....	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Spotřeba masa ve světě	10
3.2 Spotřeba masa v České republice	11
3.3 Struktura masa	12
3.3.1 Struktura svalového vlákna	13
3.3.2 Typy svalových vláken.....	15
3.4 Složení masa a jeho význam v lidské výživě	17
3.4.1 Voda v mase.....	17
3.4.2 Bílkoviny v mase	18
3.4.3 Tuk v mase	20
3.4.3.1 CLA.....	21
3.4.4 Minerální látky a vitaminy	22
3.4.4.1 Železo.....	23
3.4.4.2 Zinek.....	24
3.4.4.3 Vitaminy skupiny B	25
3.5 Postmortální změny	26
3.5.1 Prae rigor	26
3.5.2 Rigor mortis	27
3.6 Zrání masa	28
3.7 Faktory ovlivňující křehkost během zrání a jeho vliv na vlastnosti masa.....	29
3.8 Proteolytické enzymy.....	30
3.8.1 Kalpainy.....	31
3.8.1.1 Struktura kalpainu	31
3.8.1.2 Kalpastatin	31
3.8.1.3 Vztah mezi kalpastatinem a tuhostí masa	32
3.8.1.4 Mechanismy působení kalpainu	33
3.8.1.5 Vliv kalpainů na kvalitu masa.....	33
3.8.2 Katepsiny	36
3.8.2.1 Katepsiny jako lyzozomální cysteinové proteázy.....	37
3.8.2.2 Funkce katepsinů v mase.....	38
3.8.3 Proteazom.....	39
3.8.3.1 Systém proteazom a jeho možná úloha při křehnutí masa	40

3.8.4	Kaspázy	42
3.8.4.1	Aktivace a regulace kaspáz.....	43
3.8.4.2	Apoptóza v souvislosti s postmortálními změnami ve svalovině	44
3.8.5	Peptidázy a proteolýza.....	46
4	Závěr	47
5	Literatura.....	48
6	Seznam použitých zkratk a symbolů	58

1 Úvod

Konzumace masa patří už více než 15 tisíc generací k zásadním směrům stravování lidstva, proto je i zřejmé, že je náš organismus na tento typ stravy dobře adaptován. Spotřeba masa byla historicky postavena na mase přežvýkavců, zvěřině, ale i na vepřovém a kuřecím. Postupem času stoupala nabídka vepřového masa, které bylo celoročně dostupné a v Evropě se stalo nejvíce konzumované. Stále se zvyšuje i spotřeba kuřecího masa, kdy k jeho zvýšené konzumaci přispívalo hlavně zprůmyslnění chovu. Co se týče hovězího masa, jeho kvalita stále vzrůstá, ale kvantita ve spotřebě je v Evropě oproti vepřovému a drůbežímu stále nižší.

V dnešní době, kdy se populace čím dál více rozrůstá a překonala už hranici 8 miliard lidí, je potřeba zabezpečit výživu obyvatelstva kvalitní živočišnou bílkovinou stále vyšší. I přes náboženské důvody, které konzumaci určitého druhu masa v některých zemích zakazují, stále vzrůstá potřeba nasytit lidstvo a předejít tak hladomoru v chudších zemích. Po celém světě neustále stoupá trend zvyšující se spotřeby masa na člověka, kdy průměrná konzumace je odhadována na 45 kg na jednoho obyvatele za rok. V Evropě je průměr okolo 80 kg na člověka ročně, přičemž v USA je to až 120 kg na osobu za rok.

Vzrůstající spotřeba masa zvyšuje své nároky na životní prostředí, přičemž v tomto ohledu jedním z nejvíce diskutovaných je chov skotu, který má vysoké nároky na produkční plochu zemědělské půdy, spotřebu vody, ale zejména je spojován i se značnou produkcí skleníkových plynů.

Maso je považováno za velmi významnou potravinu, díky svému obsahu dobře využitelných bílkovin v lidském organismu. Je také zdrojem tuku, některých minerálních látek a vitamínů, zejména skupiny B.

Pojem maso znamená v užším slova smyslu především kosterní svalovinu. Tato tkáň se skládá z příčně pruhované svaloviny, jejíž součástí jsou tzv. myofibrily, které zajišťují kontraktilitu svalu. Po usmrcení zvířete dochází ve svalovině k řadě biochemických a fyzikálních procesů, nazývaných také jako zrání masa.

Zrání masa zahrnuje zpravidla tři fáze, při kterých dochází k požadovaným změnám. První fází je období před *rigorem*, neboli *prae rigor*. Ve druhé fázi následuje posmrtné ztuhnutí, zvané *rigor mortis* a třetí fází už je samotné zrání masa. Tyto změny jsou zásadní pro dosažení požadovaných organoleptických vlastností, kde jedny z nejvýznamnějších jsou křehkost, šťavnatost a chutnost. Poznání v oblasti zrání masa může vést k produkci potraviny s konzistentní kvalitou, což je nezbytné pro konzumentskou přijatelnost.

Svou roli v procesu zrání hrají proteolytické enzymy (proteázy), které lze dělit na exoproteázy a endoproteázy. Tyto enzymy hydrolyzují peptidické vazby aminokyselin a tím štěpí proteiny. Při proteolýze v procesu zrání masa se uplatňuje několik proteolytických systémů, jako jsou např. katepsiny, kalpainsy, proteazomy či kaspázy.

Mechanismy těchto systémů uplatňujících se při procesu zrání masa byly odhalovány postupně. Dnes je už ale patrné, že v procesu zrání masa mají své postavení.

Předložená práce se snaží přispět k rozšíření poznání v této oblasti a obeznámit tak čtenáře s funkcí a významem výše zmíněných proteáz v procesu zrání masa.

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce bylo přiblížit a vysvětlit čtenářům poměrně složitý proces zrání masa, a především význam proteolytických enzymů v tomto procesu. Proteolytické enzymy hrají v procesu zrání významnou roli, avšak není příliš známo, do jaké míry. Studie, které se na tuto problematiku zaměřují, upírají svou pozornost především na kalpainy a přisuzují jim největší zásluhu na tenderizaci masa. Dnes je však patrné, že na výsledné křehkosti masa se pravděpodobně podílejí nejen kalpainy, ale i kaspázy, katepsiny a v určité míře i systém proteazom.

Funkce v procesu zrání je u některých z výše uvedených enzymů poněkud kontroverzní, tudíž cílem této práce bylo podat objektivní přehled o jejich vlivu, ale i určitých nedostacích.

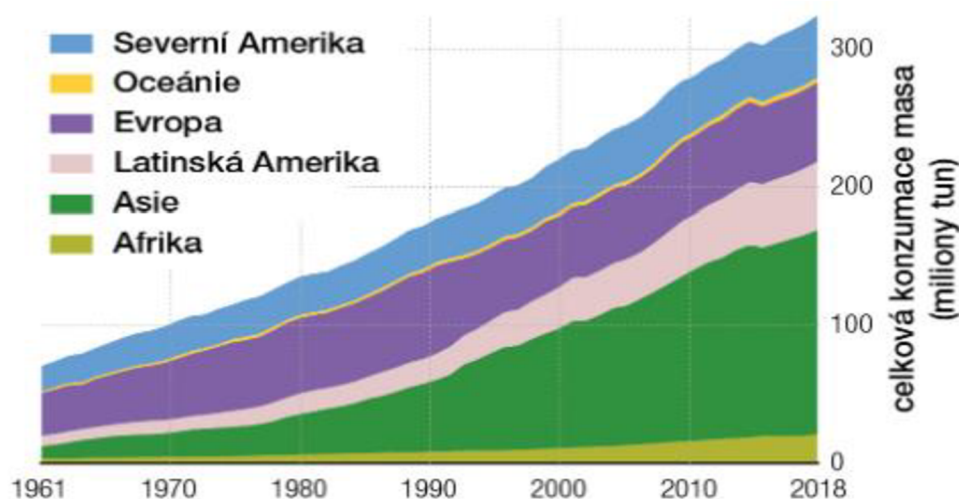
I přes to, že určitá míra vlivu těchto enzymů na proces zrání je nezpochybnitelná, lze bezesporu říci, že absolutní většina studií zabývajících se tímto tématem, uvádí potřebu tuto problematiku dále prozkoumávat a zjišťovat další poznatky.

3 Literární rešerše

3.1 Spotřeba masa ve světě

Spotřeba masa vzrůstá už od 60. let 20. století, ale významný vzrůst byl zaznamenán zejména v 80. letech 20. století (González et al. 2020). Celosvětová spotřeba masa na obyvatele a celkové množství masa značně vzrůstá, což je způsobeno rostoucími příjmy jednotlivců, ale i růstem populace. Významný nárůst byl zaznamenán především v celosvětové spotřebě kuřecího a vepřového masa. Je však patrné, že spotřeba masa a masných výrobků má zásadní vliv na zdraví člověka a může značnou mírou ovlivnit i životní prostředí (Godfray et al. 2018).

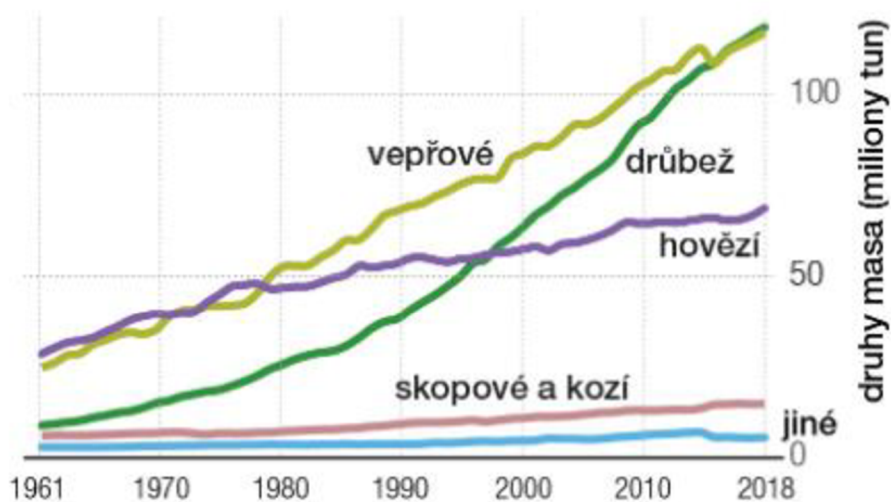
Roční průměrná světová spotřeba masa na osobu je zhruba 45 kg, přičemž s rostoucí životní úrovní se spotřeba masa zvyšuje i v chudších oblastech světa. V Evropské unii se průměrná spotřeba na osobu za rok pohybuje okolo 80 kg, avšak v USA roční spotřeba na osobu za rok dosahuje až 120 kg (Vrtiška 2022). Celková konzumace masa v různých částech světa je uvedena na obrázku 1.



Obrázek 1: Celková konzumace masa (v milionech tun) v různých částech světa

Zdroj: Vrtiška 2022

V zemích s vysokými příjmy se spotřeba ustálila, ne-li snížila, zatímco v zemích se středními příjmy, zejména ve východní Asii a v Číně se poměrně dramaticky zvýšila. Množství konzumovaného masa v Africe zůstalo v průměru relativně nízké, avšak v některých afrických zemích, zejména v pasteveckých oblastech, je spotřeba masa vyšší, jelikož maso a mléčné výrobky tvoří velmi velký podíl stravy. V mnoha zemích došlo také k výrazným změnám v druzích konzumovaného masa. Dnešní trend ukazuje vyšší spotřebu kuřecího masa na úkor hovězího (Godfray et al. 2018). Konzumované druhy masa ve světě jsou uvedeny na obrázku 2.



Obrázek 2: Konzumované druhy masa ve světě (v milionech tun)

Zdroj: Vrtiška 2022

Ve světě vládne trend snížení spotřeby masa, který vychází i z kontextu ruského útoku na Ukrajinu a dopadá nejen na zvyšující se ceny masa, ale i na zvyšující se ceny jiných komodit. Je však patrné, že by se měli omezit především konzumenti z bohatých zemí, někteří také navrhuji výrazné zdanění masa, které by vedlo ke snížení jeho spotřeby, avšak je důležité říci, že přechod na úplné vegetariánství není nezbytný ani žádoucí, jelikož maso představuje významný zdroj určitých nutrientů, které by bylo obtížné zajistit čistě z rostlinných zdrojů, zvláště v některých chudších oblastech (Vrtiška 2022).

3.2 Spotřeba masa v České republice

Spotřeba masa ve statistických údajích vychází z objemů produkce masa v dané zemi s ohledem na dovoz a vývoz masa. Výsledné údaje pak představují spotřebu masa vztaženou na populaci dané země (Kameník et al. 2014)

V roce 2021 byla průměrná spotřeba masa na jednoho obyvatele zhruba 86 kg v hodnotě kosti (jedná se o domácí spotřebu masa, vztaženou na kg nebo tuny JUT, dělenou počtem obyvatel příslušného státu) (Kameník et al. 2014; Novotný 2022). Ve srovnání s dalšími státy Evropy je spotřeba masa v České republice vcelku podobná. Méně masa je konzumováno ve skandinávských národech a zemích východní Evropy, oproti tomu ve Španělsku (99 kg/osobu/rok), v Portugalsku (95 kg/osobu/rok) či v Rakousku (87 kg/osobu/rok) bývá spotřeba masa značně vyšší (Novotný 2022).

Podrobný přehled spotřeby masa a vnitřností v České republice je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1: Průměrná spotřeba různých druhů masa v České republice

	Spotřeba kg/obyvatele/rok	Průměrná spotřeba g/obyvatele/den
Vepřové maso	44,6	122
Hovězí maso	9,4	26
Drůbeží maso	29,9	82
Zvěřina	1,1	3
Vnitřnosti	4,0	11

Zdroj: Novotný 2022, upraveno autorem

U celkové spotřeby ryb se rostoucí trend v České republice nepotvrzuje, jelikož v roce 2021 připadala průměrná roční spotřeba na osobu 5,6 kg, což je zhruba o 2,3 % méně než v roce 2020 a téměř o 7 % méně než v roce 2019. Průměrná konzumace ryb týdně v České republice dosahuje zhruba 108 g, avšak EFSA doporučuje konzumovat alespoň 150 až 300 g za týden (Novotný 2022).

3.3 Struktura masa

Svalové buňky jsou jedny z nejvíce organizovaných buněk v těle zvířat, jelikož vykonávají širokou škálu mechanických funkcí. Patří sem především pohyb končetin, udržování rovnováhy a tělesného tepla (Huff Lonergan et al. 2010).

Jedinečnou charakteristikou kosterního svalu je jeho různorodost, která je dána utvářením jednotlivých svalů, typem svalových vláken a jejich heterogenitou (Karlsson et al. 1999).

Kontraktilní a metabolické vlastnosti kosterního svalu mohou silně ovlivnit vzorec energetického metabolismu u živého zvířete, stejně tak, jako během posmrtné přeměny svaloviny na maso. Fyziologické charakteristiky kosterního svalu udávají variabilitu metabolických reakcí svalové tkáně během předporážkového stresu a následnou rychlost a pokles pH po porážce (Karlsson et al. 1999).

Všechny tyto změny mohou mít značný vliv na proteiny ve svalové buňce, zejména na jeden z proteolytických enzymových systémů, o kterém se předpokládá, že hraje významnou roli v procesu zkřehčování, ke kterému dochází během zrání masa (Huff Lonergan et al. 2010).

3.3.1 Struktura svalového vlákna

Metabolismus a pohyb svalové tkáně je úzce spjatý s udržováním tělesného tepla a pohybem krve a mízy. Existuje jen málo buněk v organismu, které musí vygenerovat tolik síly a neustále procházet změnami svého metabolismu, jako svalové buňky. Struktura, vnitřní organizace, ale i metabolismus svalových buněk, jsou nezbytnými ukazateli funkce a zachování integrity během jejich kontrakce a při časných postmortálních fázích (Huff Lonergan et al. 2010; Kameník et al. 2014).

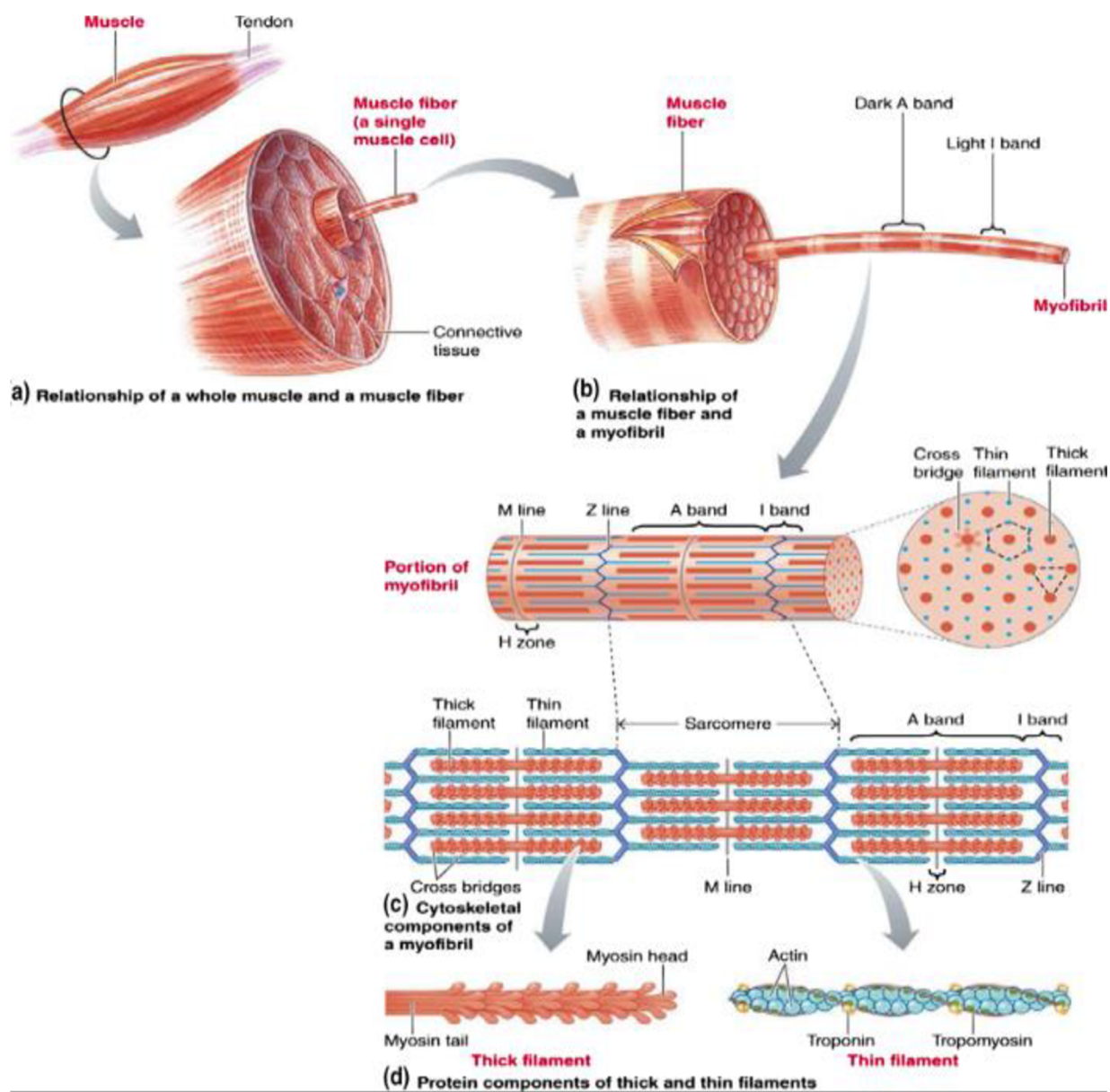
Svalová tkáň je obklopena vrstvou pojivové tkáně, nazývané epimysium. Skupiny jednotlivých vláken uvnitř svalu jsou uspořádány do svazků a obklopeny vrstvou pojiva nazývaného perimysium. (Frontera & Ochala 2015).

Svalové vlákno je z histologického hlediska soubuní, které vzniklo během embryonálního vývoje splynutím několika menších buněk, tzv. myoblastů (Kameník et al. 2014). Strukturu svalového vlákna ukazuje obrázek 3. Svalové buňky kosterního svalu jsou příčně pruhované. Tento vzhled je způsoben specializovanými organelami, myofibrilami, které jsou kontraktilemi jednotkami svalových buněk a jsou velmi dobře organizované. Cytoplazma svalových buněk se označuje jako sarkoplazma a je vyplněna myofibrilami. V myofibrilách dochází ke střídání bílkovinných pásů A a méně hustých pásů I. Pásky I jsou hojně protkány tmavými liniemi, známými jako Z-linie. Struktura mezi dvěma Z-liniemi se nazývá sarkomera. Uvnitř každé sarkomery jsou obsaženy všechny strukturní prvky potřebné k provedení kontrakce na molekulární úrovni. V současnosti je odhadováno, že strukturu sarkomery tvoří více než 65 proteinů (Fraterman et al. 2007; Huff Lonergan et al. 2010).

Pás I je tvořen především tenkými vlákny, zatímco pás A je tvořen převážně tlustými vlákny a některými překrývajícími se tenkými vlákny. Páteří tenkých vláken je protein aktin a u tlustých vláken je to protein myozin (Huff Lonergan et al. 2010).

Aktin a myozin jsou dvě nejhojněji zastoupená myofilamenta v kosterním svalu a tvoří přibližně 70–80 % celkového obsahu bílkovin v jednom vlákně. Myozin je hlavním molekulárním motorem a u savců bylo popsáno celkem jedenáct sarkomerických myozinů (Frontera & Ochala 2015). Svalový myozin patří do skupiny tzv. myozinů II. Hlavním charakteristickým rysem této skupiny je, že v její molekule jsou přítomny 2 hlavičky ATP. Myozinové vlákno se skládá přibližně ze 150 molekul myozinu. Samotné molekuly myozinu se skládají ze dvou typů řetězců. Prvním typem je tzv. těžký a v molekule se nacházejí 2 tyto řetězce. Druhým typem je tzv. lehký a v molekule je zastoupen čtyřikrát (AL-Khayat et al. 2008; Kameník et al. 2014). Aktinové vlákno je dvoušroubovice s kulovitými monomery aktinu. Po obou stranách této dvoušroubovice se nachází vláknité molekuly tropomyozinu, přičemž ke každé molekule tropomyozinu se váže molekula troponinu (Kameník et al. 2014).

Dalším myofibrilárním proteinem je i nebulin, který je vedlejší součástí tenkých vláken a spolu s troponinovým komplexem a tropomyozinem, jsou nezbytnými účastníky svalové kontrakce, avšak nejdůležitější roli zde má aktin a myozin (Lana & Zolla 2016).



Obrázek 3: Struktura kosterního svalu
 Zdroj: Frontera & Ochala 2015

3.3.2 Typy svalových vláken

Typové složení svalových vláken, plochy vláken a hustoty kapilár v konkrétních svalech, jsou důležitými faktory, které mohou ovlivňovat mnoho peri- i postmortálních biochemických procesů, a tím i kvalitu masa. Mezi typy svalových vláken je značná odlišnost, ať už v rámci svalů nebo mezi druhy zvířat (Klont et al. 1998). Faktory, které souvisí se složením svalových vláken a ovlivňují tak kvalitu masa, jsou především druh svalu, věk, hmotnost, plemeno, hormony a fyzická aktivita (Klont et al. 1998; Choi & Kim 2009). Vlákna se liší především ve svých molekulárních, metabolických, strukturálních a kontraktálních vlastnostech, což se následně odráží na celkových vlastnostech svalů a posléze i na kvalitě masa (Choi & Kim 2009).

Svalová vlákna představují zhruba 75–90 % objemu svalu, jejich průměr se pohybuje od 10 do 100 μm a obvykle se klasifikují dle kontraktálních a metabolických vlastností (Lefaucheur 2010). Další metoda klasifikace je založena na rozdílu v citlivosti aktivity aktomyozinové ATPázy na preinkubaci pH. Histochemie myozinové ATPázy po preinkubaci při pH 4,7 a 10,4 v prasečím svalu *longissimus dorsi* je patrná z obrázku 4. Na základě aktivity ATPázy po preinkubaci lze vymezit typy svalových vláken I (červené, pomalé, oxidativní), IIA (bílé, rychlé, oxidativně-glykolytické) a IIB (bílé, rychlé, glykolytické) (Klont et al. 1998; Lefaucheur 2010). Díky monoklonárním protilátkám bylo možné rozlišit podle myozinových těžkých řetězců podtyp vlákna IIB-vlákno IIX. Tato vlákna typu IIX tvoří téměř polovinu všech vláken IIB (Eggert et al. 2002).

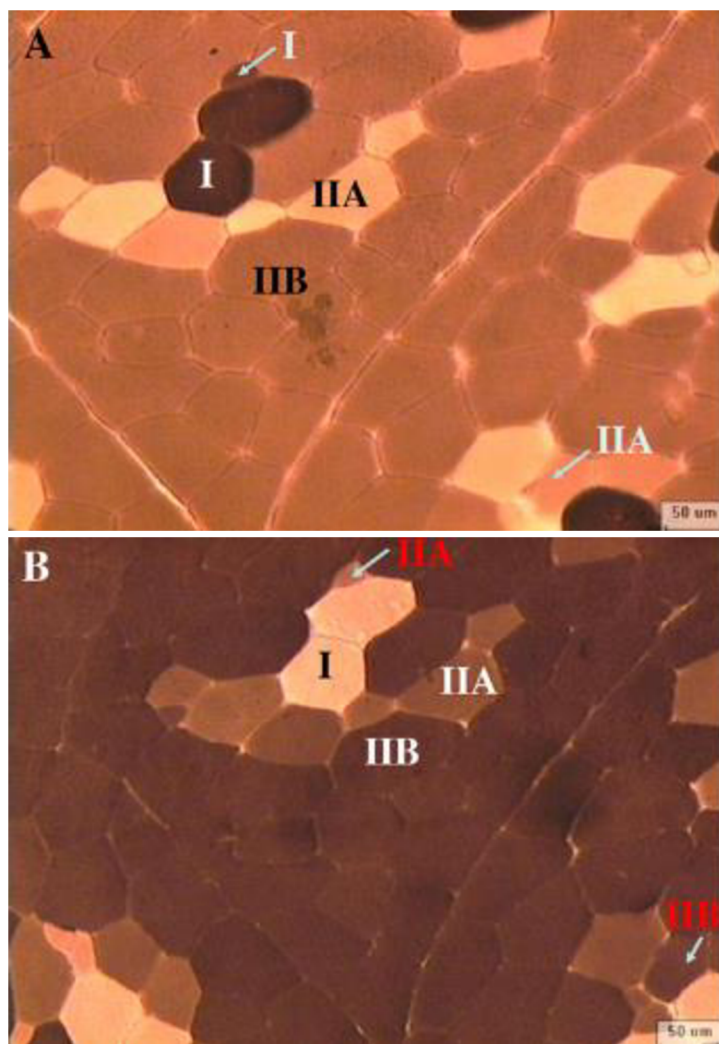
Bylo zjištěno, že červená vlákna obsahují vyšší množství enzymů podílejících se na oxidativním metabolismu, ale zároveň mají nižší množství glykolytických enzymů a vyšší hladinu myoglobinu než vlákna bílá (Jurie et al. 1999; Choi & Kim 2009).

Vlákna typu I neboli pomalá červená vlákna, vytvářejí energii pro resyntézu ATP převážně aerobním přenosem energie. Mají také nízkou úroveň aktivity myozinové ATPázy a jejich glykolytická aktivita je méně rozvinuta než u vláken bílých (Choi & Kim 2009). Červená vlákna jsou schopna vykonávat dlouhou práci, avšak s nízkým výkonem. Mají poměrně nízký práh dráždivosti a vykazují vysokou citlivost na Ca^{2+} (Kameník et al. 2014). Oxidativní vlákna mají širší Z-linie než vlákna glykolytická. Pomalá vlákna obsahují relativně velké a početné mitochondrie, myoglobin a cytochromy elektronového přenosového řetězce (Choi & Kim 2009).

Vlákna typu II, zejména IIB, mají schopnost přenášet energii pro rychlý a silný svalový výkon. Tato vlákna mají rozsáhleji vyvinuté sarkoplazmatické retikulum, což je v souladu s jejich rychlou kontrakcí, ale jsou poměrně snadno unavitelná (Bottinelli et al. 1994; Stienen et al. 1996). Glykolytická vlákna typu IIB vykazují vysokou aktivitu myofibrilární ATPázy, přičemž krátkodobé a intenzivní kontrakce jsou zásobované ihned využitelným kreatinfosfátem a degradací glykogenu prostřednictvím glykolytické dráhy. Tato vlákna mají vysoký práh dráždivosti a nespotřebovávají tolik energie, jelikož se používají především při krátkodobých prudkých pohybech (Kameník et al. 2014).

Vlákna typu IIX a IIA vykazují pomalejší rychlost zkracování než vlákna typu IIB (Choi & Kim 2009). Vlákna IIX jsou svými vlastnostmi podobná vláknům IIB, avšak jejich oxidativní metabolismus je mírně vyšší a kontrakce jsou pomalejší. Vlákna IIA jsou svými vlastnostmi

na úrovni mezi typy I a IIX (Kameník et al. 2014). Různé vlastnosti jednotlivých typů svalových vláken jsou uvedeny v tabulce 2.



Obrázek 4: Histochemie myozinové ATPázy po preinkubaci při pH 4,7 (A) a 10,4 (B) v prasečím svalu *longissimus dorsi*. Reprezentativní barvení příčných řezů svalových vláken.

Zdroj: Choi & Kim 2009

Tabulka 2: Vlastnosti jednotlivých typů svalových vláken

	Typ I	Typ IIA	Typ IIX	Typ IIB
Kontrakce	pomalá	středně rychlá	rychlá	velmi rychlá
Svalový výkon	nízký	střední	vysoký	velmi vysoký
Odolnost k únavě	hodiny	méně než 30 minut	méně než 5 minut	méně než 1 minuta

Zdroj: Sertel et al. 2011, upraveno autorem

3.4 Složení masa a jeho význam v lidské výživě

Sval se skládá přibližně ze 75 % vody, 20 % bílkovin, 3 % tuků a zbylá 2 % tvoří rozpustné nebílkovinné látky. Z těchto 2 % připadá 45 % na nebílkovinné dusíkaté látky, 34 % na sacharidy, 18 % na anorganické sloučeniny a 3 % na vitaminy a kovy (Tornberg 2005).

Maso hraje klíčovou roli v lidské evoluci a je důležitou složkou zdravé a dobře vyvážené stravy, díky svému nutričnímu bohatství. Maso je významným zdrojem biologicky hodnotných bílkovin a komplexu vitamínu B, především B12 (Pereira & Vicente 2013). V tabulce 3 je uveden obsah vody, bílkovin a tuku ve vybraných druzích masa. Dále je poměrně dobrým zdrojem metabolicky aktivního železa, a navíc zvyšuje jeho vstřebávání z jiných potravinových zdrojů. Maso je také nejbohatším zdrojem zinku. Základním důvodem je, stejně jako v případě železa, nepřítomnost prvků bránících příjmu zinku, jako je vláknina, či fytát (Ahmed et al. 2018).

Tabulka 3: Obsah vody, bílkovin a tuku (%) ve vybraných druzích masa

	Voda	Bílkoviny	Tuk
Slepičí	71,60	25,70	1,10
Kuřecí	74,87	22,90	1,23
Hovězí	74,50	20,87	1,97
Krůtí	75,10	20,20	2,90
Maso z bojového býka	72,77	22,98	3,28
Vepřové	72,57	21,77	4,62
Maso z hřiběte	71,36	23,60	5,22
Jehněčí	73,30	18,30	6,73
Králíčí	70,50	21,30	7,20

Zdroj: Lozano et al. 2017, upraveno autorem

3.4.1 Voda v mase

Voda je důležité reakční prostředí ve všech potravinách včetně masa a výrazně ovlivňuje jeho senzorické vlastnosti. Obsah vody v mase značně kolísá od 46 do 78 % s ohledem na anatomický původ zvířete, druh, plemeno, stáří či životní podmínky. V libové svalovině se nachází zhruba 72-75 % vody (Kameník et al. 2014).

Ve svalovině lze uvažovat o třech stavech vody, a to o strukturální (vázané), povrchové (hydratační) a volné vodě. Strukturální voda je vázaná vodíkovými ionty uvnitř dutin a žlábků globulárních proteinů. Povrchová voda je to, co obvykle nazýváme jako hydratační voda

makromolekuly. Tato povrchová voda pokrývá obvykle jednu nebo dvě molekulární vrstvy od povrchu biopolymeru, přičemž tato hydratační voda tvoří zhruba 5 % z celkového obsahu vody ve svalovině. Volná voda je v kapilárách udržována pomocí kapilárních sil (Tornberg 2013). Velká část vody je poutána uvnitř myofibril v prostoru mezi tenkými a tlustými filamenti. Poměrně značné ztráty vody mohou nastat při smršťování filament během *rigor mortis* nebo při tepelném opracování masa (Kameník et al. 2014).

3.4.2 Bílkoviny v mase

Postavení masa jako zdroje bílkovin, je jednoznačné. Významné jsou zejména bílkoviny s vysokou biologickou hodnotou, které se vyznačují obsahem esenciálních aminokyselin. (Pereira & Vicente 2013). Procentuální obsah esenciálních aminokyselin ve vybraných bílkovinách svalové a pojivové tkáně je uveden v tabulce 4. Uspořádání aminokyselin v masných bílkovinách je většinou pravidelné a nezáleží na tom, z jaké části je maso získáváno. Výjimku však představuje maso s vyšším množstvím kolagenu či elastinu (Ahmed et al. 2018). Udává se, že průměrný obsah bílkovin v mase je 22 %, u kuřecích prs však může být nadprůměrný (34,5 %) či podprůměrný u kachního masa (12,3 %) (Pereira & Vicente 2013).

Maso obsahuje zásadní množství některých esenciálních aminokyselin. Mezi tyto aminokyseliny se řadí především lysin, treonin, tryptofan a sirté aminokyseliny, jako je methionin, cystein a taurin (Bellavia et al. 2014).

Tabulka 4: Procentuální obsah esenciálních aminokyselin ve vybraných bílkovinách svalové a pojivové tkáně

	Myofibrilární proteiny		Sarkoplazmatické proteiny		Stromatické proteiny	
	myozin	aktin	myogen	myoglobin	kolagen	elastin
Valin	2,6	4,9	7,4	4,1	4,0	12,6
Lysin	11,9	7,6	9,5	15,5	4,1	0,6
Threonin	5,1	7,0	6,5	4,6	2,3	2,5
Tryptofan	0,8	2,1	2,3	2,3	-	-
Fenylalanin	4,3	4,8	3,1	5,9	3,5	3,4
Methionin	3,4	4,5	1,1	1,7	0,8	0,4
Leucin	15,6	8,3	11,5	16,8	3,7	8,9
Isoleucin	6,3	-	7,9	-	1,9	3,7

Zdroj: Pipek 1995, upraveno autorem

Bílkoviny v mase lze dělit do 3 hlavních skupin: myofibrilární, sarkoplazmatické a stromatické. Nejvyšší zastoupení mají bílkoviny myofibrilární, které představují 50-55 % celkového obsahu bílkovin. Sarkoplazmatické proteiny tvoří přibližně 30-34 % z obsahu bílkovin a zbylých 10-15 % připadá na stromatické bílkoviny (Tornberg 2005).

Myofibrilární proteiny se následně mohou dělit do 3 podskupin. První podskupinou jsou vláknité myofilamentární proteiny, tvořící strukturu myofibril. Do této skupiny patří zejména aktin a myozin. Další podskupinou jsou regulační proteiny, které zahrnují tropomyozin-troponinový komplex, α - a β -aktinin, M-protein a C-protein. Poslední podskupinou myofibrilárních bílkovin jsou tzv. „scaffold proteins“, což jsou podpůrné strukturální bílkoviny a řadí se mezi ně titin, nebulin, desmin, vimentin či synemin (Tornberg 2005). V tabulce 5 je uveden přehled významných myofibrilárních bílkovin.

Tabulka 5: Přehled významných myofibrilárních bílkovin

bílkovina	relativní molekulová hmotnost	výskyt	procentuální podíl
myozin	470 000	tlustá filamenta	45
G-aktin	46 000	tenká filamenta	20
tropomyozin	70 000	tenká filamenta	5
troponin	70 500	tenká filamenta	5
α -aktin	180 000	Z-linie	1
C-protein	140 000	kolem myozinu	2
M-protein	88 000	mezofragma	3
desmin	55 000	střední filamenta	0,4

Zdroj: Pipek 1995, upraveno autorem

Sarkoplazmatické bílkoviny jsou rozpustné proteiny sarkoplazmy, k nimž patří většina enzymů glykolytické dráhy, kreatinkináza, myoglobin, globulin, myogen či myoalbumin (Pipek 1995; Tornberg 2005). V sarkoplazmatické frakci je přítomna směs několika set globulárních proteinů s relativně nízkou molekulovou hmotností (Tornberg 2005; Marcos et al. 2010). Z hlediska technologie masa mají ze sarkoplazmatických bílkovin největší význam hemová barviva, jako je myoglobin a hemoglobin. Jsou to chromoproteiny, které způsobují červené zbarvení masa. Z výživového hlediska se sarkoplazmatické bílkoviny řadí k tzv. plnohodnotným¹ bílkovinám (Pipek 1995). Přehled sarkoplazmatických bílkovin je uveden v tabulce 6.

¹ Mají relativně vysokou využitelnost a z hlediska potřeb organismu mají optimální složení esenciálních aminokyselin

Tabulka 6: Přehled sarkoplazmatických bílkovin

	Relativní hmotnost	molekulová	Procentuální podíl z obsahu bílkovin
Myogen A	150 000		4
Myogen B	81 000		16
Myoalbumin	-		1-2
Globulin X	140 000-180 000		20
Myoglobin	17 000		0,5-2

Zdroj: Pipek 1995, upraveno autorem

Bílkoviny pojivových tkání, též nazývané stromatické bílkoviny, jsou nerozpustné bílkoviny s protáhlým vláknitým tvarem, jejichž funkce je většinou podpurná a strukturální. Tyto proteiny se vyskytují především ve vazivech, šlachách a kůži, ale lze je nalézt i ve svalové tkáni (Pipek 1995). Stromatické proteiny tvoří intramuskulární pojivovou tkáň (IMCT). Množství, složení a morfologie této pojivové tkáně se liší mezi jednotlivými svaly, druhy zvířat, plemeny a mění se i s věkem jedince (Purslow 2005; Kameník et al. 2014). IMCT se skládá především z vláken kolagenu a elastinu, které jsou obklopeny proteoglykanovou maticí. Obsah kolagenu v hovězí svalovině se může pohybovat v rozmezí od 1 % do 15 % v sušině. Elastin je zastoupený v menší míře a jeho obsah se pohybuje od 0,6 % do 3,7 % (Purslow 2005). Ke stromatickým bílkovinám se řadí také keratiny či retikulín (Pipek 1995).

Co se týče výživového hlediska, tak stromatické bílkoviny bývají označovány za neplnohodnotné, jelikož nemají všechny esenciální aminokyseliny. V kolagenu a elastinu téměř zcela chybí tryptofan a cystein (Pipek 1995).

3.4.3 Tuk v mase

Tuk a mastné kyseliny v tukové tkáni či přímo ve svalovině významně přispívají k různým aspektům kvality masa a mají zásadní význam pro jeho výživovou hodnotu (Wood et al. 2008). Obsah tuku v mase se významně liší nejen mezidruhově, ale i mezi jednotlivými částmi masa. U kuřecího a krůtího masa se obsah tuku pohybuje mezi 1-15 %, přičemž obsah tuku v krůtích stehnech je obvykle vyšší než v kuřecích. Vepřové maso obvykle obsahuje od 8 do 28 % tuku (Pereira & Vicente 2013).

Tuk lze v těle zvířat rozlišit na terminální, mezisvalový a intramuskulární (Rouhani et al. 2014). Terminálního tuku je zhruba 60-70 % z celkového tělesného tuku, mezisvalového přibližně 20-35 % a intramuskulárního zhruba 5 % (Kouba & Sellier 2011).

Lipidy v mase se po chemické stránce dají rozdělit na dvě skupiny – na triacylglyceroly a fosfolipidy. Triacylglyceroly jsou estery glycerolu a mastných kyselin a představují zejména zásobní tuk. Fosfolipidy mají funkci strukturální. Podílejí se zejména na výstavbě buněčných

membrán a jejich obsah ve svalech je relativně konstantní (Kameník et al. 2014). Hmotnostní procento mastných kyselin v různých druzích masa je uvedeno v tabulce 7.

Chemické složení tuku se odvíjí od druhu zvířete, ale i od skladby krmiva. U prasat je mnohem vyšší podíl kyseliny linolové v mase i v tukové tkáni, než v obou tkáních skotu či ovcí (Wood et al. 2008). Vepřové sádlo vykazuje daleko lepší poměr nenasycených mastných kyselin k nasyceným, než je tomu u hovězího loje. Tato skutečnost je dána rozdílným metabolismem, který probíhá u prasat a metabolismem probíhajícím u skotu. U prasat prochází kyselina linolová v nezměněné formě žaludkem až do tenkého střeva, kde se vstřebává do krve a z krve do tkání, kdežto v bacheru u skotu dochází k biohydrogenaci a přeměně kyseliny linolové na nasycené mastné kyseliny (Wood et al. 2008; Kameník et al. 2014).

Tabulka 7: Hmotnostní procento celkových mastných kyselin

mastná kyselina	hovězí	skopové	vepřové
Myristová	2,66	3,30	1,33
Palmitová	25,0	22,2	23,2
Stearová	13,4	18,1	12,2
Olejová	36,1	32,5	32,8
Linolová	2,42	2,70	14,2
α -Linolenová	0,70	1,37	0,95
arachidonová	0,63	0,64	2,21
EPA (eikosapentanová)	0,28	0,45	0,31
DHA (dokosahexanová)	0,05	0,15	0,39

Zdroj: Enser et al. 1996, upraveno autorem

Zastoupení mastných kyselin v tukové tkáni může do značné míry ovlivňovat její senzorické vlastnosti, a to zejména tuhost, která se odvíjí od rozdílného obsahu jednotlivých mastných kyselin (Kameník et al. 2014).

3.4.3.1 CLA

Konjugovaná kyselina linolová (CLA) je utvořena skupinou polohových a geometrických izomerů kyseliny linolové. Tomuto uskupení je přisuzováno hodně zdravotně prospěšných účinků, jako jsou kupříkladu antikarcinogenní, antidiabetické či antiaterogenní účinky a má velice příznivý vliv na imunitní systém, metabolismus kostí a složení těla. CLA se vyskytuje zejména v mléce a mase přežvýkavců. Přirozeně se vyskytující CLA vzniká hlavně při bakteriální izomeraci nebo biohydrogenaci polynenasycených mastných kyselin (PUFA) v bacheru či desaturací transmastných kyselin v tukové tkáni a mléčné žláze (Schmid et al. 2006). Maso přežvýkavců má zpravidla vyšší obsah konjugované kyseliny linolové než

maso nepřezvýkavců. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u masa jehněčího a hovězího, avšak u masa vepřového, kuřecího a koňského byla koncentrace značně nižší (Chin et al. 1992). Podrobný přehled obsahu CLA v různých druzích masa je uveden v tabulce 8. Obsah konjugované kyseliny linolové v mléce byl taktéž široce zkoumán a liší se v závislosti na druhu zvířete, složení krmiva či fáze laktace (Young et al. 2013).

Nejčastější izomer CLA je c9 t11-CLA (kyselina cis-9-trans-11-oktadekadienová), která tvoří zhruba 80 % všech konjugovaných kyselin linolových. U CLA jsou dvojně vazby odděleny pouze jednou jednoduchou vazbou, kdežto kyselina linolová má mezi dvěma dvojnými vazbami dvě jednoduché (Kameník et al. 2014)

CLA může hrát také významnou roli při snižování rizika obezity a diabetu, avšak studie, které se zabývaly touto problematikou, probíhaly zejména na hlodavcích, proto je potřeba tyto studie upřesnit, aby bylo možné trvalé účinky CLA prokázat i u lidí (Young et al. 2013).

Tabulka 8: Obsah CLA a izomeru c9 t11-CLA v různých druzích masa

	Celkový obsah CLA (mg/g tuku)	c9 t11-CLA (%)
Hovězí zadní	2,9	79
Čerstvé mleté hovězí	4,3	85
Telecí	2,7	84
Jehněčí	5,6	92
Vepřové	0,6	82
Kuřecí	0,9	84
Čerstvé mleté krůtí	2,5	76
Losos	0,3	-
Pstruh	0,5	-
Krevety	0,6	-

Zdroj: Chin et al. 1992, upraveno autorem

3.4.4 Minerální látky a vitaminy

Kromě bílkovin a tuků, které maso obsahuje, jsou jeho nezbytnou součástí také významné vitaminy a minerální látky. Tyto látky jsou považovány za nedílnou součást lidské stravy, jelikož je tělo nedokáže syntetizovat a podílejí se na důležitých metabolických pochodech (Ahmed et al. 2018). Maso je klíčovým zdrojem zinku, železa a skupiny vitamínu B. Na obsahu těchto živin v mase se mohou podílet různé intravitální faktory jatečných zvířat, ale i finální způsob přípravy masa ke konzumaci (Kameník et al. 2014).

3.4.4.1 Železo

Železo se nejčastěji vyskytuje ve dvou biologicky významných stavech, a to v redukované železnaté formě (Fe^{2+} , hemové) a v oxidované železité formě (Fe^{3+} , nehemové). Železo je účinným katalyzátorem volných radikálových reakcí, což může znamenat, že „volné železo“ (železo, které není navázáno na bílkoviny nebo jiné organické molekuly) je potenciálně toxické a organismy musí minimalizovat jeho účinek. Tato ochrana závisí na proteinech, které se podílejí na jeho příjmu ze stravy, dále na jeho přenosu do systémového oběhu, na jeho transportu po těle a ukládání v tkáních (Geissler & Singh 2011).

V maso se hojně vyskytuje jak hemové (převážně ve formě hemoglobinu), tak nehemové železo (anorganické). Vyšší vstřebatelnost železa je umožněna nepřítomností některých látek v maso, jako jsou fyáty, trísloviny, oxaláty či vláknina. Využitelnost nehemového železa v těle je přibližně 1-10 %, zatímco hemové železo je využitelné až z 25 %. Železo, které pochází z masného zdroje má nejen vyšší vstřebatelnost v lidském těle, ale také pomáhá při správném vstřebání železa z jiných zdrojů (Ahmed et al. 2018).

Nedostatek železa může vést k nedostatku řady biologických funkcí. Až 90 % jeho potřeby zajišťuje endogenní zdroj, rozpad červených krvinek (Pereira & Vicente 2013). Dospělý člověk má zhruba 60-70 % železa v hemoglobinu, kde je přítomné ve formě Fe^{2+} (Kameník et al., 2014). Železo je nezbytné jako součást hemoglobinu v erythrocytech pro přenos kyslíku v organismu a ve formě myoglobinu pro ukládání a využívání kyslíku ve svalech (Geissler & Singh 2011).

Maso je pravděpodobně nejlepším zdrojem hemového železa. Tmavé maso má obsah hemového železa zhruba 39,20 %, zatímco světlé obsahuje asi 26,15 % hemového železa. Nejvyšší obsah hemového železa má hovězí maso, kdy se průměrná hodnota může pohybovat okolo 58 % (Pereira & Vicente 2013). Obsah železa u vybraných druhů masa je uveden v tabulce 9.

I přes zásadní roli železa v lidském organismu však může být jeho nadměrný příjem nebezpečný. Vysoké dávky mohou způsobit poškození střevní sliznice či vyvolat poškození okolních tkání volnými radikály. V poslední době se vysoký příjem železa spojuje s vyšším rizikem vzniku kolorektálního karcinomu, kardiovaskulárního onemocnění či neurodegenerativních onemocnění a zánětů. Z těchto důvodů existuje tolerovatelná horní hranice denního příjmu, která nevyvolá nežádoucí účinky. Hodnota stanovená v USA byla 45 mg/den pro dospělou osobu (Pereira & Vicente 2013).

Tabulka 9: Obsah železa a zinku v různých druzích mas v mg·100 g⁻¹ syrového masa

	Železo	Zinek
hovězí		
▪ roštěná	1,93	4,09
▪ svíčková	2,37	4,01
▪ vrchní šál	1,91	3,94
telecí		
▪ svíčková	1,20	5,01
jehněčí		
▪ žebírko	1,98	2,43
vepřové		
▪ kotleta	0,42	1,55
kuřecí		
▪ prsa	0,40	0,65
▪ horní stehno	0,70	1,71
▪ křídla	0,63	1,29
krůtí		
▪ prsa	0,50	1,08
▪ horní stehno	0,99	2,47
králičí	0,38	0,55

Zdroj: Lombardi-Boccia et al. 2005, upraveno autorem

3.4.4.2 Zinek

Maso je nejbohatším zdrojem zinku a udává se, že může tvořit až 33 % denního příjmu u lidí, kteří jedí maso (Ahmed et al. 2018). Dostatečný příjem zinku je pro lidské zdraví nezbytný vzhledem k jeho roli v enzymatických systémech, dělení a růstu buněk, expresi genů, imunitních a reprodukčních funkcích (Pereira & Vicente 2013). V buňkách je zinek jedním z nejhojněji zastoupených minerálů a podporuje mnoho biochemických funkcí. Je součástí více než 300 metaloenzymů a často je nazýván také jako kov života. Některé studie naznačují, že se nedostatek zinku může podílet na vzniku deprese, cirhózy jater či diabetu (Djinovic-Stojanovic et al. 2017).

Zinek je přítomen téměř ve všech druzích potravin živočišného a rostlinného původu, avšak bylo prokázáno, že zásadní množství zinku se nachází právě v mase (Djinovic-Stojanovic et al. 2017). Z některých studií vyplývá, že příjem zinku z potravy, která je na bázi živočišných bílkovin, je vyšší než u rostlinné stravy. Základním důvodem je, stejně jako v případě železa, nepřítomnost prvků, které brání lepší vstřebatelnosti, jako jsou fytyáty či vláknina (Ahmed et al. 2018). Obsah zinku v různých druzích mas je uveden v tabulce 9. Z tabulky je patrné, že nejvyšší obsah zinku je v mase telecím a hovězím, avšak nezanedbatelné množství se nachází také ve vepřovém mase (Lombardi-Boccia et al. 2005).

3.4.4.3 Vitaminy skupiny B

Vitaminy jsou širokou skupinou základních složek potravy, jelikož jsou nezbytné pro růst a normální fungování lidského či zvířecího organismu. Tyto sloučeniny lze rozdělit do dvou hlavních skupin dle rozpustnosti, a to na vitaminy rozpustné v tucích a ve vodě. Mezi nejdůležitější vitaminy rozpustné ve vodě se řadí právě vitaminy skupiny B neboli B-komplex. Do tohoto komplexu pak řadíme především thiamin (vitamin B1), pyridoxin (vitamin B6) či kyanokobalamin (B12). Každý ze členů B-komplexu má svou jedinečnou strukturu a funkci v organismu (Riccio et al. 2006).

Maso je důležitým zdrojem vitaminů skupiny B, a to zejména vitaminu B12 a thiaminu. Jejich koncentrace se však může lišit nejen mezi jednotlivými druhy masa, ale i mezi jednotlivými partiemi téhož druhu (Lombardi-Boccia et al. 2005). Maso pokrývá téměř 25 % denního příjmu thiaminu a riboflavinu (vitamin B2), dále téměř 44 % niacinu, asi 40 % vitaminu B6 a skoro 70 % vitaminu B12 (Kameník et al. 2014).

Výživová hodnota masných výrobků závisí na druhu použitého masa a současně i na způsobu jejich výroby. Důležitým ukazatelem jsou podmínky tepelné úpravy, protože silně ovlivňují koncentraci vitaminů v masě. Při tepelném opracování masa a masných výrobků může docházet ke ztrátám stopových prvků a vitaminů, takže finální množství vitaminů přijatých masem může být značně proměnlivé. Ztráty vitaminů mohou být ale i důsledkem způsobu porážky (Riccio et al. 2006).

Vitamin B12 se nachází pouze v masě a masných potravinách, což může způsobit značný problém při nedostatku způsobeném vegetariánskou stravou a nést s sebou zvýšené riziko patologií nervového systému a perniciózní anémie. Denní referenční příjem vitaminu B12 pro dospělého člověka je udáván jako 2 µg/den, přičemž tohoto množství lze dosáhnout pomocí 100 g hovězího nebo skopového masa, avšak 100 g králičího masa poskytuje až trojnásobek doporučeného denního množství (Dalle Zotte & Szendro 2011). Obsah vitaminů B12 a dalších vitaminů v různých druzích syrových mas je uveden v tabulce 10.

Tabulka 10: Obsah různých vitaminů ve vybraných druzích syrových mas v mg·100 g⁻¹

	vepřové	hovězí	telecí	kuřecí	králičí
Vitamin B1	0,38-1,12	0,07-0,10	0,06-0,15	0,06-0,12	0,18
Vitamin B2	0,10-0,18	0,11-0,24	0,14-0,26	0,12-0,22	0,09-0,12
Vitamin PP	4,0-4,8	4,2-5,3	5,9-6,3	4,7-13,0	3,0-4,0
Vitamin B6	0,50-0,62	0,37-0,55	0,49-0,65	0,23-0,51	0,43-0,59
Vitamin B12 (µg)	1,0	2,5	1,6	< 1,0	10,0
Kyselina listová (µg)	1,0	5,0-24,0	14,0-23,0	8,0-14,0	0,16

Zdroj: Dalle Zotte & Szendro 2011, upraveno autorem

3.5 Postmortální změny

Po porážce jatečných zvířat dochází k celé řadě biochemických a fyzikálních procesů, které ve svém důsledku vedou ke změně svaloviny v maso. Tato přeměna je charakteristická svými technologickými a organoleptickými vlastnostmi a její průběh je pro finální kvalitu masa velmi významný (Bureš et al. 2020). Tyto přeměny, souhrnně označované jako zrání masa, jsou důležité především pro požadovanou křehkost, šťavnatost a chutnost (Kameník 2016).

Při postmortálních změnách dochází k nahrazení aerobních procesů v buňkách svalové tkáně, což vede ke zvyšování kyseliny mléčné ve svalovině a tím i poklesu pH. Je tak nastartován proces, který vede k fragmentaci dlouhých řetězců bílkovin, jenž se ve svém důsledku projeví ve zlepšení texturních charakteristik tepelně upraveného masa (Bureš et al. 2020).

Doba zrání je odlišná pro různé druhy zvířat. U drůbeže jsou to 1-2 dny, u prasat by mělo zrání trvat déle než dva dny, pro telecí se udává jako minimum sedm dní a pro hovězí maso je to cca dva týdny (Kameník 2016).

Celý proces, kdy dochází k přeměně svaloviny v maso, lze z pravidla rozdělit do tří fází. První fází je stádium *prae rigor*, kde je ovlivněna tuhost masa především obsahem kolagenu. Druhou fází je již samotný *rigor mortis*, kde dochází ke změnám v textuře především rozsahem zkrácení svalových vláken. V poslední fázi, nazývané také jako vlastní zrání masa, již přichází požadované zvyšování křehkosti v souvislosti se strukturálními změnami (Bureš et al. 2020).

3.5.1 Prae rigor

Prae rigor neboli období před *rigorem mortis* začíná v okamžiku bezprostředně po porážení zvířete až do nástupu posmrtného ztuhnutí. Trvá zpravidla 1-8 hodin podle druhu zvířat a ostatních vnějších podmínek (Kameník 2016). Maso v období *prae rigor* má dobrou extrahovatelnost myofibrilárních bílkovin, vysokou vaznost a je stále fyziologicky aktivní² (Claus & Sørheim 2006).

Maso, které je ve fázi *prae rigor* není tuhé, neuvolňuje vodu a je velmi vhodné pro zpracování na mělněné masné výrobky. Označuje se jako maso „teplé“, jelikož v této fázi má ještě vysokou teplotu (35–45 °C). Teplota zde však není rozhodující. Podstatné je to, že ještě nenastal *rigor mortis* a maso je možné v této fázi dokonce zmrazit a uchovat u něj vlastnosti teplého masa (Pipek 1995).

Svalovina je do jisté míry stažitelná díky kreatinfosfátu, který je důležitý pro obnovu ATP. Po vyčerpání zásob ATP získává sval energii štěpením glykogenu, přičemž tento proces probíhá bez přístupu kyslíku a jeho efektivita je na tvorbu ATP velice nízká (Kameník 2016). Díky kyselému prostředí, jež vytváří vznikající kyselina mléčná, se sníží aktivita enzymů podílejících se na štěpení glykogenu (Kameník et al. 2014).

Když dojde k úplnému vyčerpání energetických zásob, hladina ATP rychle klesá a dochází tak ke ztrátě schopnosti disociace myozinu z aktinomyozinového komplexu. Vytvářejí se tak

² Reaguje na elektrickou stimulaci, má vysoké pH a dostupnou energii

*rigor bonds*³ mezi aktinem a myozinem. K tomuto stavu dochází při hodnotě pH 5,9 a při koncentraci ATP 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$. Svalovina je více tužší a nastává *rigor mortis* (Kameník 2016).

3.5.2 Rigor mortis

Rigor mortis je fází, kdy dochází ke zkracování svalových vláken za snížené hladiny ATP a nižší hodnotě pH (Kameník 2016). Celý proces zkracování souvisí i s okolní teplotou (Huff-Lonergan et al. 2010), přičemž tento fakt je uveden v tabulce 11.

Tabulka 11: Vliv okolní teploty na procentuální zkrácení svalu

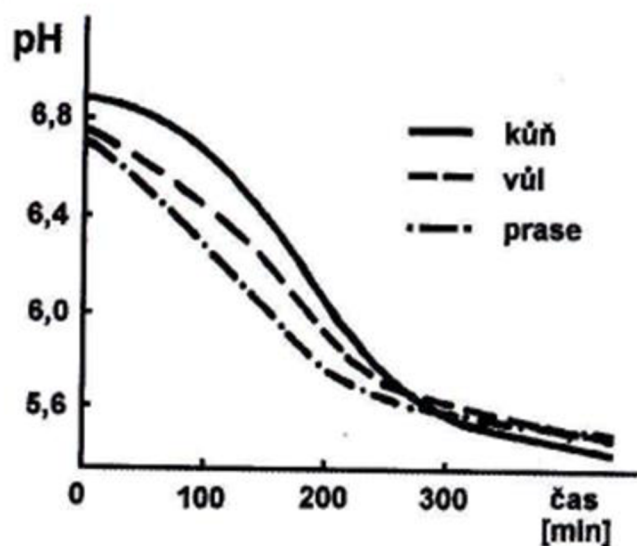
teplota	% zkrácení
0-10 °C	50 %
15-20 °C	10 %
20-40 °C	30 %

Zdroj: Kameník et al. 2014, upraveno autorem

Zkracování svalu souvisí nejen s nižší hladinou ATP, pH a vlivem teploty, ale i s vyplavováním Ca^{2+} iontů. Tyto ionty se uvolňují ze sarkoplazmatického retikula, stimuluje spojení myozinových hlavic s aktinovými filamenty a podélný posun aktinových vláken do středu sarkomer, čímž dochází k přiblížení Z-linií a délka sarkomer se zkrátí (Binke 2004; Huff-Lonergan et al. 2010). Se snižující se koncentrací ATP tudíž vzniká aktinomyozinový komplex, a dochází k tomu, že svalovina ztrácí svou pružnost a stává se tak pevnější. Maximální ztráty pružnosti, tj. úplného *rigoru*, je dosaženo při koncentraci ATP 0,5 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ při teplotách 10–38 °C a pH v rozmezí 5,5 – 5,6 (Pipek 1995).

V průběhu stádia *rigor mortis* dochází k postupnému klesání pH (uvedeno na obrázku 5) až na konečnou hodnotu, které lze dosáhnout. Pro vepřové, hovězí a skopové maso je to hodnota 5,5. Vepřové maso potřebuje k dosažení této hodnoty 4-8 hodin, skopové 12-24 hodin a hovězí 24-48 hodin (Kameník et al. 2014).

³ Rigor vazby mezi aktinem a myozinem



Obrázek 5: Pokles pH post mortem.

Zdroj: Pipek 1995

3.6 Zrání masa

Kvalita masa je termín, který obecně zahrnuje organoleptické vlastnosti jako je barva, chuť, textura, šťavnatost a křehkost (Kemp & Parr 2012).

Mechanismy, které jsou odpovědné za vývoj těchto vlastností masa a jsou vzájemně závislé, zdůrazňují složitost přeměny svaloviny v maso (Ouali et al. 2006). Při zrání masa dochází k tomu, že se začíná postupně uvolňovat ztuhlost svalu, zlepšovat vaznost a mírně vzrůstá pH. Uvolňování *rigoru mortis* souvisí s fragmentací myofibril, která je způsobena zejména proteolýzou myofibrilárních bílkovin. Uplatňují se při tom proteázy jak vlastní tkáně, tak proteázy mikrobiální (Pipek 1995).

Rozsah postmortální proteolýzy klíčových bílkovin v mase může predikovat i jeho výslednou křehkost, přičemž jedním z nejrozsáhleji zkoumaných svalů v této oblasti je *musculus longissimus dorsi*. Bylo zjištěno, že jedním z nejdůležitějších proteolytických enzymů je systém kalpain, a to zejména μ -kalpain, který je ve většině případů spojován s proteolýzou svalových bílkovin a výslednou křehkostí. Existuje však spousta faktorů, které ovlivňují finální aktivitu kalpainu a celkový průběh autolýzy, přičemž zásadním faktorem je především pH, typ svalu, obsah pojiva, délka sarkomer, ale i vhodné chlazení masa (Anderson et al. 2012).

V průběhu proteolýzy se uplatňují nejen kalpainsy, ale i katepsiny, proteazomy a kaspázy. Všechny tyto proteolytické systémy se při zrání určitou mírou podílejí na finální křehkosti, avšak mnoho studií přisuzuje největší zásluhu hlavně kalpainovému systému (Kameník et al. 2014).

3.7 Faktory ovlivňující křehkost během zrání a jeho vliv na vlastnosti masa

Postmortální stárnutí přispívá značnou mírou k optimální křehkosti masa, nicméně na finální křehkosti se podílí i genetické a enviromentální faktory. Mezi faktory, které ovlivňují výslednou křehkost, patří teplota, pH, doba zrání, typ svalového vlákna, délka sarkomery a proteolýza (Bhat et al. 2018).

Obecně je při konzumaci masa vyhledávána především chutnost a křehkost. Na chutnosti masa se podílí převážně netěkavé složky, jako jsou anorganické soli, uhlovodíky, aminokyseliny, peptidy či mastné kyseliny. Křehkost masa představuje pro konzumenta určitý časový úsek a energii, kterou je potřeba vynaložit na rozžvýkání. Celková textura masa tak zahrnuje všechny vlastnosti masa, které jsou konzumentem vnímány při mělnění a žvýkání masa v ústech. Řadí se k nim zmíněná křehkost, šťavnatost, konzistence, ale i mramorování. Co se týče uchování masa, delší doba příznivě ovlivňuje jeho křehkost a aroma, avšak může mít negativní efekt na jeho šťavnatost a barvu (Quali 2006; Kameník et al. 2014).

Enzymatické a biochemické procesy probíhají rychleji zpravidla při vyšších teplotách, avšak u červeného masa nesmí být z hygienických důvodů vyšší než 7 °C. Enzymatické procesy začnou ustávat při teplotě -1,5 °C. Maso tedy musí být uchováváno v této teplotní oblasti. Optimální teplota pro uchování masa při procesu zrání je mezi 3 až 5 °C. Pokud teploty poklesnou pod 0 až 1 stupeň, dochází ke zpomalení až zastavení některých chemických reakcí (Kameník et al. 2014).

Xiong et al. (2007) uvádí, že oxidativní stabilita lipidů a křehkost masa se po porážce u hovězího dobytka s věkem snižuje, s čímž souvisí i celková snižující se kvalita masa. U zpracování masa by se mělo brát v úvahu jeho stáří.

Za degradaci myofibrilárních proteinů je zodpovědný z velké části enzym kalpain, protože je velmi citlivý k procesu oxidace. V důsledku oxidace m-kalpainu byla u stašího hovězího masa zaznamenána vyšší oxidace než u masa mladého skotu (Xiong et al. 2007; Kameník et al. 2014).

Za výslednou křehkost masa je zodpovědný i obsah pojivové tkáně. Kupříkladu *musculus semimebranosus* má vyšší podíl pojiva než *musculus longissimus*, což je patrné na jeho nižší křehkosti, přestože u obou svalů byla zjištěna 3 dny po porážce podobná délka sarkomery i stupeň degradace myofibrilárních bílkovin (Anderson et al. 2012; Kameník et al. 2014). Senzorické vlastnosti, pH a % ztráty vařením u *musculus longissimus dorsi* a *musculus semimembranosus* jsou uvedeny v tabulce 12.

Tabulka 12: Senzorické vlastnosti, pH a % ztráty vařením u *m. longissimus dorsi* a *m. semimembranosu* (stupeň šťavnatosti, křehkosti, rozžvýkatelnosti a chutnosti se měří na stupnici o rozměru 15 cm, přičemž 0 je nejnižší stupeň a 15 je nejvyšší stupeň)

	Počet dnů měření	<i>m. longissimus dorsi</i>	<i>m. semimembranosus</i>
pH	1	5,61	5,50
Křehkost	1	5,5	5,0
	3	7,5	4,6
	7	8,1	5,2
	14	10,6	6,0
Šťavnatost	1	8,7	8,4
	3	9,7	7,4
	7	9,7	7,7
	14	9,0	8,0
Rozžvýkatelnost	1	9,8	8,9
	3	7,4	9,4
	7	7,4	9,2
	14	4,6	8,7
Chutnost	1	5,8	5,5
	3	6,3	5,8
	7	6,1	5,7
	14	6,8	6,1
% ztráty vařením	1	29	31
	3	28	31
	7	29	32
	14	28	33

Zdroj: Anderson et al. 2012, upraveno autorem

3.8 Proteolytické enzymy

Mnoho studií prokázalo, že za křehkost masa jsou zodpovědné proteolytické enzymy, jako jsou především kalpainy a katepsiny. Někteří odborníci však naznačují, že za konečnou křehkost masa mohou být zodpovědné proteazomy, jiní zase tvrdí, že kaspázy (Bernard et al. 2007). Současně probíhá mnoho výzkumů, jejichž cílem je vysvětlit mechanismus křehnutí masa a faktory, které jsou zodpovědné za zahájení a průběh tohoto procesu (Nowak 2011).

Předpokládá se, že proteázový systém se může podílet na posmrtné proteolýze a křehnutí masa, pokud splňuje určitá základní kritéria. Rozumíme tím, že proteázy musí být endogenní pro buňky kosterního svalu, dále musí být schopny napodobit posmrtné změny myofibril a mít přístup k myofibrilám ve tkáni (Kemp et al. 2010; Nowak 2011).

3.8.1 Kalpainty

Kalcium-dependentní thiol proteázy neboli kalpainty, jsou lokalizovány v cytosolu a účastní se různých proteolytických a fyziologických dějů (Akasaka-Manya et al. 2016). Kalpainty se mohou podílet na základních buněčných procesech jako je buněčná proliferace, apoptóza či diferenciaci. Kalpain může také štěpit některé cytosolické proteiny, avšak jeho aktivita musí být přísně časově i prostorově regulována (Perrin & Huttenlocher 2002).

Systém kalpain je jedním z nejrozsáhleji studovaných enzymových systémů, které jsou důležité pro výslednou křehkost masa (Koohmaraie & Geesink 2006). Jedná se o skupinu cysteinových proteáz, jejichž aktivita je závislá na přítomnosti vápníku a neutrálního pH (Bhat et al. 2018). Tento systém se skládá z několika izoform proteolytického enzymu kalpainu a jeho endogenních forem, inhibitoru kalpastatinu (Croall & Demartino 1991).

Jedny z nejlépe charakterizovaných izoform z patnácti genů pro izoformy kalpainu jsou μ -kalpain (kalpain 1) a m-kalpain (kalpain 2). μ -kalpain je většinou vázán na myofibrily a většina m-kalpainu se nachází v cytosolu (Ilian et al. 2004; Bhat et al. 2018).

3.8.1.1 Struktura kalpainu

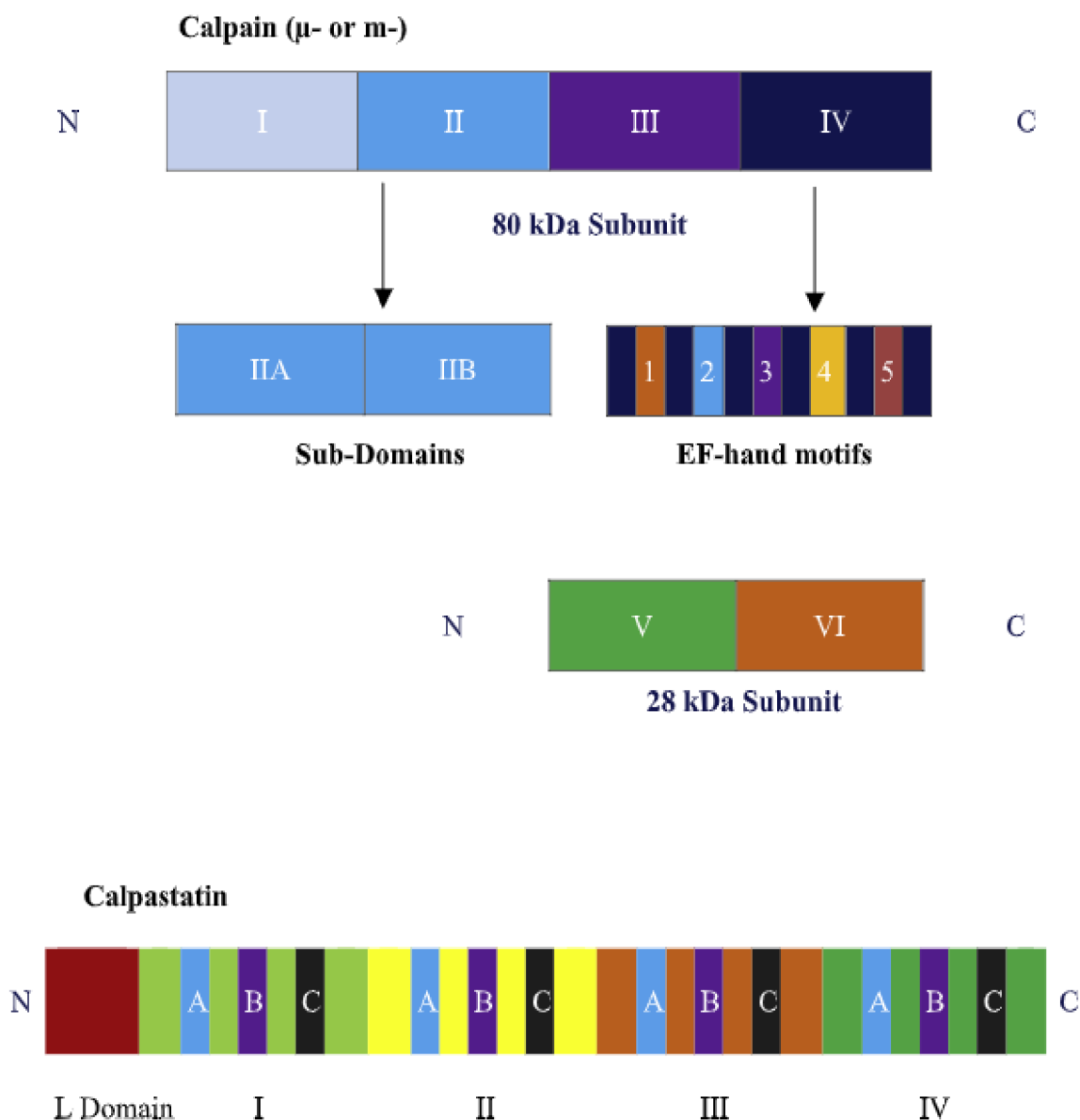
Na obrázku 6 můžeme vidět doménové struktury μ -kalpainu, m-kalpainu a kalpastatinu. Tyto kalpainty mají vysoce homologickou strukturu a jak μ -kalpain, tak m-kalpain jsou heterodimery složené z podobně velké 80 kDa katalytické podjednotky a sdílejí identickou 28 kDa malou podjednotku (Bhat et al. 2018; Mellgren 2019).

Velká 80kDa podjednotka každého kalpainu se skládá ze čtyř domén (I, II, III, IV). Malá podjednotka má dvě domény (V, VI). Doména V je bohatá na glycin a je vazebným místem pro fosfolipidy. Doména VI obsahuje pět vazebných míst pro Ca^{2+} , známých jako EF-hand motifs. N-koncová doména 80 kDa podjednotky, doména I, nemá žádnou sekvenční homologii s žádným známým polypeptidem a její odstranění pozměňuje proteolytickou aktivitu. Katalytická doména, doména II, obsahuje cysteinový zbytek (subdoména II A) a histidinový zbytek (subdoména II B), které jsou v relativních polohách, jež jsou konzervovány u všech cysteinových proteáz (Bhat et al. 2018; Mellgren 2019).

3.8.1.2 Kalpastatin

Kalpastatin, endogenní inhibitor μ - a m-kalpainu, je 70 – 80 kDa protein, jež má N-koncovou L doménu a čtyři opakující se domény (I, II, III, IV). Každá ze čtyř domén je schopna inhibovat jednu molekulu kalpainu (Raynaud et al. 2005). Tři oblasti (A, B, C) zodpovídají v rámci domén I až IV za vazbu na kalpain a inhibici jeho aktivity (Cruzen et al. 2014).

K navázání kalpastatinu na kalpain jsou nutné vápenaté ionty. V postmortálním svalu je kalpastatin degradován kalpainem a jejich vazba je reverzibilní (Kameník et al. 2014). Rychlost inaktivace a degradace kalpastatinu úzce souvisí s rychlostí proteolýzy a tenderizací masa. Faktory a podmínky, které se podílejí na regulaci kalpastatinu kalpainem, však nejsou přesně známy (Cruzen et al. 2014).



Obrázek 6: Struktury domén μ -kalpainu (kalpain 1), m -kalpainu (kalpain 2) a kalpastatinu.
Zdroj: Bhat et al. 2018

3.8.1.3 Vztah mezi kalpastatinem a tuhostí masa

Heterogenita kalpastatinu v různých buňkách a tkáních může určovat jeho intracelulární lokaci či fyziologickou roli, což může být potenciální mechanismus, díky kterému může jediný kalpastatinový gen regulovat aktivitu více kalpainových genů. Kalpastatin je sám o sobě poměrně náchylný k proteolýze, ale výsledné fragmenty si zachovávají svou inhibiční aktivitu. Kalpastatin není strukturovaný protein, ale když se naváže na kalpain, přijme strukturu, která inhibici umožňuje (Kemp et al. 2010).

Exprese kalpastatinového genu je regulována pomocí několika promotorů. Každý z promotorů je zodpovědný za expresi různých kalpastatinových mRNA, které mohou dávat různé izofomy proteinů. V rámci kalpastatinového genu má každý promotor jinou odezvu na

sekundární komunikační dráhy a zprostředkovává reakci na faktory, které mohou stimulovat růst či stresovou reakci (Parr et al. 2004; Kemp et al. 2010).

Transkripční aktivita promotorů genů kalpastatinu mezi druhy a jejich odlišná reakce na podněty je pravděpodobně z části zodpovědná za rozdílnou expresi kalpastatinu v rámci druhů, plemen i jedinců, přičemž tento fakt může ovlivnit i rozdílnou křehkost masa (Kemp et al. 2010).

3.8.1.4 Mechanismy působení kalpainu

Oba kalpains, tj. μ -kalpain a m-kalpain, vážou ionty vápníku během aktivace na různých místech. Ačkoli m-kalpain může vázat 11 až 20 iontů vápníku, strukturální studie m-kalpainu v přítomnosti 5 mM vápníku ukázala, že váže pouze 10 iontů vápníku (Hanna et al. 2008). V závislosti na dostupnosti vápníku, mohou domény IV a VI vázat tři nebo čtyři vápenaté ionty, které způsobují malý konformační posun, vedoucí k disociaci malé podjednotky. Nicméně tato konformační změna způsobená vazbou vápenatých iontů pravděpodobně není dost silná na to, aby vedla k aktivaci m-kalpainu (Elce et al. 1997; Hosfield et al. 1999).

Proteázové jádrové domény IA a IIB, nemají samy o sobě žádnou proteázovou aktivitu. Zásadní je však přítomnost vazebných míst pro vápenaté ionty, které umožňují aktivitu proteázy. Z toho vyplývá, že proteolýza je úzce spojena s vazbou vápenatých iontů, a to především na dvou místech jádra proteázy, jenž následně narušuje solné můstky mezi zbytky Glu333 a Arg104 v doméně II. Tento proces ovlivňuje katalytická triáda⁴, která umožňuje spojení a následnou aktivaci (Moldoveanu et al. 2002; Bhat et al. 2018).

3.8.1.5 Vliv kalpainů na kvalitu masa

Je patrné, že vazba vápenatých iontů vede ke konformačnímu posunu a disociaci heterodimeru kalpainu, což se projeví i při raných fázích postmortálního stárnutí. U hovězího masa dochází k aktivaci a autolýze kalpainu 1 na začátku procesu postmortálních změn, přičemž jeho aktivita se ztrácí během prvních 7 dnů (Camou et al. 2007; Cooper et al. 2022).

Myoglobin je důležitou sarkoplazmatickou bílkovinou v kosterním svalu, která rovněž zodpovídá za barvu masa a je nezbytná pro dodání kyslíku k mitochondriím (Wittenberg & Wittenberg 2003; Ordway & Garry 2004). Některé studie naznačují, že myoglobin může sloužit jako endogenní inhibitor endoproteáz, jako jsou kalpains. V předchozích výzkumech bylo naznačeno, že existuje určitý vztah mezi barvou masa a křehkostí, přičemž kalpain 1 byl identifikován jako biomarker barvy hovězího masa (Gagaoua et al. 2020).

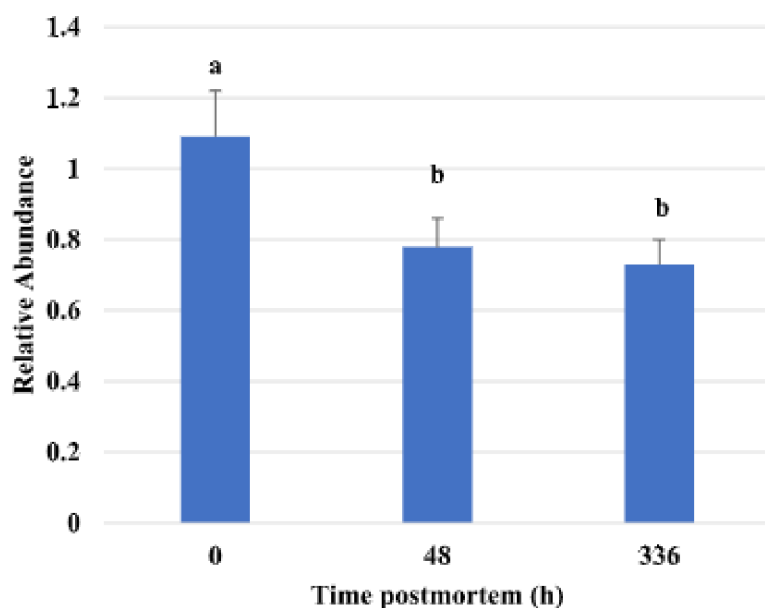
Ve studii, která se zabývá mírou myoglobinu a barvy hovězího masa u holštýnského skotu s relativním množstvím kalpainu 1 se uvádí, že jsou určité pozitivní vztahy mezi koncentrací kalpainu 1 a hmotností jatečně upraveného těla za tepla (HCW), zatímco korelace

⁴ Cys105 (cysteinový zbytek) v doméně IIA, Asp262 (asparaginový zbytek) a His286 (histidinový zbytek) v doméně IIB

mezi HCW a silou stříhu⁵ je spíše negativní. Z tohoto vyplývá, že velikost jatečně upraveného těla může mít vliv na koncentraci kalpainu 1 a výslednou proteolýzu. Další údaje, které z této studie vyplynuly, naznačují vztah mezi barvou masa a jeho křehkostí. Avšak k určení potenciálního mechanismu, který ovlivňuje barvu i křehkost, je zapotřebí provést další rozsáhlejší výzkum (Cooper et al. 2022). Průměrné hodnoty pro relativní množství kalpainu 1 ve steacích z jatečně upravených těl holštýnského hovězího po 0, 48 a 336 hodinách jsou uvedeny na obrázku 7.

Mnoho studií potvrzuje, že kalpainový systém hraje důležitou roli při postmortální proteolýze a křehnutí, avšak zbývající otázkou stále zůstává, který z kalpainů je za to zodpovědný (Koohmaraie & Geesink 2006).

Důležitou vlastností kalpainů je, že po aktivaci autolyzují, což může vést ke ztrátě jejich aktivity. V postmortálním svalu skotu a ovcí postupně klesala aktivita kalpainu 1, ale aktivita kalpainu 2 byla pozoruhodně stabilní. Toto pozorování vedlo k závěru, že za posmrtné křehnutí je z velké části zodpovědný kalpain 1, nikoliv však kalpain 2. Ve svalech se nachází také kalpain 3, který *post mortem* také autolyzuje. Bylo však zjištěno, že kalpain 3 není na rozdíl od kalpainu 1 a 2 inhibován kalpastatinem, tudíž se mu významná role při postmortálním křehnutí a proteolýze nepřipisuje (Koohmaraie & Geesink 2006).

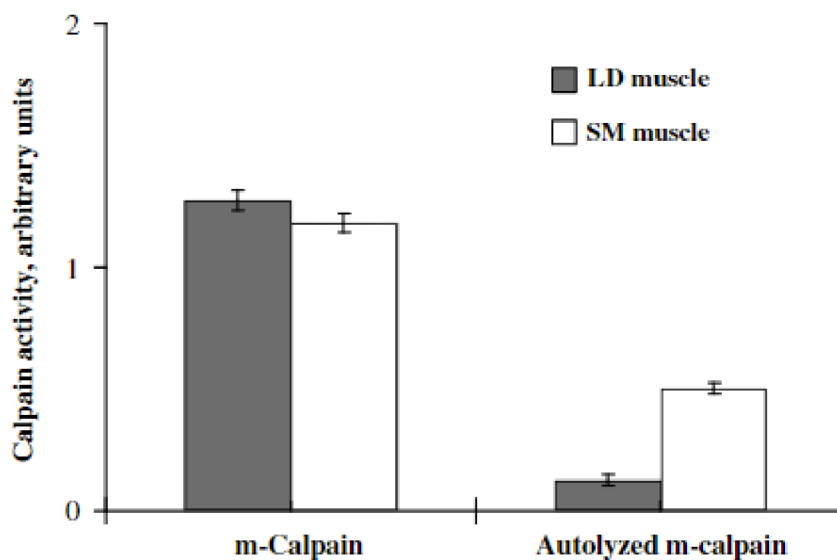


Obrázek 7: Průměrné hodnoty a příklady páků pro relativní množství kalpainu 1 ve steacích z jatečně upravených těl holštýnského hovězího po 0, 48 a 336 hodinách

Zdroj: Cooper et al. 2022

⁵ Instrumentálně měřená tuhost masa

Pomponio et al. (2008) se ve své studii snažil charakterizovat změny v aktivitě kalpainu po porážce u vepřového masa. Konkrétněji zkoumal vzorky prasečího *musculus longissimus dorsi* a *musculus semimembranosus*. Z výsledku bylo patrné, že došlo k postmortální autolýze m-kalpainu, přičemž aktivita autolyzované formy m-kalpainu byla zjistitelná 3. den po porážce a stále se zvyšovala i 6. den. Od 1. do 6. dne byl však pozorován pokles aktivity nativního m-kalpainu. Pomocí zjistitelné zymografie byla zjištěna a srovnána aktivita nativního a autolyzovaného m-kalpainu ve svalecth prasat, přičemž výsledek je patrný z obrázku 8. Souhrnně lze z těchto výsledků usoudit, že m-kalpain je v postmortální svalovině prasat aktivní.



Obrázek 8: Srovnání aktivity nativního a autolyzovaného m kalpainu ve svalecth prasat *musculus longissimus dorsi* (LD) a *musculus semimembranosus* (SM) 72 hodin po porážce, zjištěné pomocí zymografie.

Zdroj: Pomponio et al. 2008

3.8.2 Katepsiny

Katepsiny jsou skupinou enzymů, zahrnující exo- a endopeptidázy, které se dělí na cysteinové (katepsiny B, H, L, X), serinové (katepsin G) a asparaginové (katepsiny D) peptidázy. U katepsinu E, který se řadí taktéž mezi asparaginové peptidázy, nebyla nikdy zjištěna exprese ve svalových buňkách, ale nachází se v makrofázích ve svalové tkáni (Sentandreu et al. 2002).

Obecně se katepsiny označují jako peptidázy lokalizované v lysozomech a většinou jsou aktivní při kyselém pH (Sentandreu et al. 2002). Lysozomy jsou cytoplazmatické membránově vázané organely, které slouží především jako hlavní rozkladná složka eukaryotických buněk. Do lysozomů mohou být endocytickou cestou dopravovány makromolekuly endogenní i exogenní. Mimo jiné mohou lysozomy rozkládat i proteiny transportované z cytosolu. Funkci lysozomu vykonává více než 50 hydroláz, závislých na kyselinách obsažených v jejich lumen⁶ (Dell'angelica et al. 2000; Kornfeld & Mellman 2003). Na membráně lysozomu se nachází soubor membránových proteinů, jejichž funkcí je transport iontů, aminokyselin a dalších rozpuštěných látek skrz tuto membránu. Díky tomu je luminální pH udrženo v rozmezí 4,5 – 5 (Ohkuma & Poole 1978).

Katepsiny mají schopnost rozkládat myozin, aktin a α -aktin, přičemž k degradaci těchto proteinů dochází během normálního stárnutí svalu (Nowak 2011). Katepsiny jsou syntetizovány jako proenzymy, ale štěpením N-koncového propeptidu dochází k přeměně na aktivní formy enzymů (Turk et al. 2000).

Katepsiny jsou jako proteolytické enzymy poněkud kontroverzní, jelikož spousta studií jejich funkci při křehnutí masa odmítá, a to především proto, že v postmortálním období nedochází k rozsáhlé degradaci aktinu a myozinu, jež jsou primárními substráty pro katepsiny. Dalším důvodem je také to, že se nacházejí v lysozomech, z nichž musí být uvolněny, aby měly přístup k proteinům myofibril a podílet se tak na křehnutí masa. Avšak existuje také mnoho studií, které křehnutí masa připisují aktivitě katepsinů, a to především v krátkém časovém úseku těsně po porážce (Kemp et al. 2010). Mikami et al. (1987) uvádí, že katepsin L hydrolyzuje velké množství myofibrilárních proteinů, včetně titinu, nebulinu, troponinu či tropomyozinu, jež jsou degradovány v postmortálním procesu, stejně tak i aktinu a myozinu v králíčích, hovězích a kuřecích myofibrilách.

V tabulce 13 jsou uvedeny stručné charakteristiky hlavních skupin katepsinů, které vykazují endopeptidázovou aktivitu a u nichž se předpokládá, že by mohly mít určitý význam v kosterním svalů (Sentandreu et al. 2002).

⁶ Vnitřní část

Tabulka 13: Vlastnosti hlavních skupin katepsinů nacházejících se v kosterním svalu.

Název	Klasifikace a typ	Velikost (kDa)	Optimální pH
Katepsin B	Skupina cysteinů C1	30 kDa	5,5 – 6,5
Katepsin L	Skupina cysteinů C1	28 kDa	5,5 – 6,5
Katepsin H	Skupina cysteinů C1	28 kDa	6,5 – 6,8
Katepsin S	Skupina cysteinů C1	24 kDa	6,0 – 6,5
Katepsin K	Skupina cysteinů C1	29 kDa	6,0 – 6,5
Katepsin F	Skupina cysteinů C1	-	5,2 – 6,8
Katepsin D	Skupina aspartylů A1	45 kDa	3,0 – 5,0
Katepsin E	Skupina aspartylů A1	42 kDa	3,0 – 3,5

Zdroj: Sentandreu et al. 2002, upraveno autorem

3.8.2.1 Katepsiny jako lysozomální cysteinové proteázy

Jednou z nejrozšířenějších cysteinových proteáz je skupina papainů, do které patří papain, chymopapain, bromelain, parazitární proteázy a mimo jiné i lysozomální katepsiny (Turk et al. 2000).

Aktivní katepsiny představují vysoký hydrolytický potenciál. Jejich aktivita je řízena nejen faktorem pH, ale i redoxním potenciálem, mírou aktivace prekurzorů a specifických endogenních inhibitorů (Dufour et al. 1988; Sentandreu et al. 2002). Obecně se předpokládá, že katepsiny fungují pouze v kyselém prostředí, avšak bylo prokázáno, že katepsin S je stabilní a aktivní i při pH vyšším než 7, což by mohlo naznačovat i jeho možnou roli mimo lysozomy. Katepsin L je naopak velmi nestabilní při neutrálním a alkalickém pH (Kirschke et al. 1989; Turk et al. 1999).

Hydrolytická účinnost katepsinů je značně závislá na poměru koncentrace prekurzoru a enzymu, ale také na rovnováze inhibitoru a katepsinu. Dnes už je patrné, že endogenní

inhibitory zastávají svou významnou roli při postmortálních změnách v mase (Shackelford et al. 1996; Lloyd & Mason 1996; Ouali 1999).

3.8.2.2 Funkce katepsinů v mase

Katepsiny spolu s dalšími proteázami se podílejí na významných biologických procesech souvisejících s degradací svalových vláken, zvláště při zánětlivých procesech (Sentandreu et al. 2002). Funkce lysozomálních katepsinů při postmortálních změnách v mase byla v posledních letech poměrně nejasná a kontroverzní (Shyu et al. 2000).

Jedna skupina vědců se přiklání k tomu, že katepsiny nemají takový podíl na postmortálním křehnutí masa, jelikož jejich aktivita nebyla prokazatelná u některých vzorků masa vzhledem ke křehkosti. Dalším důvodem byly studie, které sledovaly inhibitory katepsinů. Tyto inhibitory nebyly schopny potlačit postmortální proteolýzu, přičemž obecný inhibitor katepsinů i kalpainů účinně postmortální proteolýze zabránil. V tomto důsledku byla zásadní role přisouzena kalpainům (Koochmaraie et al. 1988; Mestre Prates et al. 2001).

Mimo jiné se předpokládá, že katepsin D neovlivňuje natolik postmortální stárnutí z toho důvodu, že velkou část své aktivity ztrácí při nízké teplotě, jeho optimální pH je jiné než optimální pH masa při postmortálních změnách a jeho inhibitor pepstatin nemá takový vliv na proces stárnutí (Uytterhaegen et al. 1994).

Katepsiny jsou zadržovány v lysozomech, přičemž tato skutečnost podporuje názor, že se nemohou do značné míry podílet na postmortální proteolýze, jelikož by nemusely mít přístup k myofibrilární struktuře bez předchozího rozpadu lysozomální membrány (Koochmaraie 1996).

Ve vědeckém světě se ale objevují i názory, které funkci katepsinů značně objasňují. V některých studiích bylo prokázáno, že dochází k postupnému narušování lysozomů při postupujícím zrání masa. Po 14 dnech skladování je rozpad lysozomů téměř úplný (Sentandreu et al. 2002). Rozpad lysozomu je podpořen i poklesem pH v době, kdy je teplota jatečně upraveného těla poměrně vysoká (Moeller et al. 1977; Sentandreu et al. 2002). Bylo také prokázáno, že aktivita volných katepsinů B, H a L, koreluje s křehkostí masa od jednoho dne po porážce do konce zrání (Calkins & Seideman 1988; O'Halloran et al. 1997).

Chéret et al. (2007) ve své studii porovnává činnost kalpainů a katepsinů v postmortálním svalu ryb a skotu. Uvádí, že aktivita katepsinů B a L byla v bílé svalovině okouna mořského významně vyšší než u skotu, avšak aktivita katepsinu D byla v hovězím mase 1,4krát vyšší než ve svalovině ryb. Aktivita katepsinu H byla však v obou svalech zanedbatelná. Co se týče aktivity kalpainu, jeho činnost byla v obou typech svaloviny podobná. Mimoto zaznamenaná aktivita endogenního inhibitoru kalpainu byla až 3,9krát vyšší ve svalovině okouna mořského než u skotu. Aktivity těchto proteolytických enzymů jsou uvedeny v tabulce 14 (Chéret et al. 2007).

Tabulka 14: Aktivita proteolytických enzymů (katepsin D, katepsin H, katepsin B, katepsiny (B + L), katepsiny L a kalpainy) a kalpastatinu ve svalovině mořského okouna a ve svalovině skotu [Jednotky pro aktivitu enzymů jsou různé: pro katepsin D je to zvýšení absorbance při 295 nm/minutu na gram svalu a pro ostatní katepsiny a kalpain to je zvýšení FU (jednotka fluorescence) za minutu na gram svalu. Aktivita kalpastatinu z mořského okouna byla měřena za použití purifikovaného kalpainu (130 FU/min) ze svalu mořského vlka, zatímco hovězího kalpastatinu se měřila za použití purifikovaného kalpainu (130 FU/min) ze svalu skotu.]

	Svalovina okouna mořského	Hovězí svalovina
Katepsin D	1,8 ± 0,21	2,4 ± 0,03
Katepsin H	170 ± 39	212 ± 26
Katepsin B	2168 ± 681	73 ± 13
Katepsiny (B+L)	11823	2507 ± 620
Katepsin L	9655	2434
Kalpainy	1308 ± 261	1224 ± 76
Kalpastatin	22444 ± 4021	5705 ± 1492
Poměr kalpastatin/kalpain	17,2	4,7

Zdroj: Chéret et al. 2007

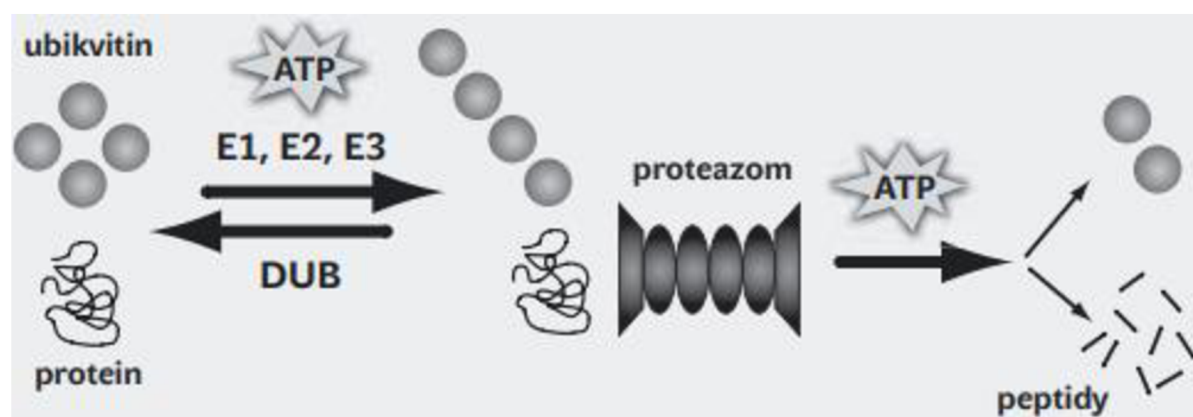
Zamora et al. (1996) uvedl, že sval skotu, který je poměrně bohatý na enzymy, se stává více křehčím. Ze studie, kterou provedl Chéret et al. (2007) vyplývá, že katepsin H nehraje v postmortální proteolýze rybí a hovězí svaloviny značnou roli, přičemž katepsin B hraje významnou roli v *post mortu* ryb, ale u hovězí svaloviny je jeho množství příliš nízké na to, aby se významně účastnil postmortálního křehnutí.

3.8.3 Proteazom

Proteazom je multikatalytický proteázový komplex, který se podílí na regulaci základních buněčných drah, a to především díky degradaci proteinů v cytosolu a jádře (Coux et al. 2003). Proteazom je místem, kde dochází ke štěpení bílkovin, přičemž schéma štěpení bílkovin systémem proteazom je patrné z obrázku 9 (Kemp et al. 2010). Proteazomy jsou hojně zastoupeny v kosterním svalstvu. Významný proteazom 26S se skládá z 19S regulační podjednotky a 20S multikatalytické struktury, která je proteolyticky enzymově aktivní (Dahlmann et al. 2001).

Proteolýza proteazomem je závislá na ubikvitinu. K lyzinovému zbytku cílového substrátu se musí navázat nejméně čtyři ubikvitinové bílkoviny. Polyubikvitinované proteiny jsou rozpoznány proteazomem, který může opětovně přemístit ubikvitinový řetězec a degradovat tak substrát (Taillandier et al. 2004; Kemp et al., 2010). Celý proces je

závislý na ATP a po dokončení se proteazom 26S rozpadá na podjednotku 19S a proteazom 20S, přičemž proteazom 20S nevyžaduje ATP ani ubikvitin (Peters et al. 1994). Proteazom 26S se tedy podílí na proteolýze nezávisle na ATP či ubikvitinu a proteazom 20S, který je katalytickým jádrem proteazomu 26S, se může přímo podílet na eliminaci poškozených, oxidovaných nebo částečně denaturovaných proteinů. Konkrétní funkce proteazomu 20S je zatím poměrně nejasná. V buňkách je však proteazom 20S hojně zastoupen a je patrné, že vyčerpání ATP vede k reverzibilní disociaci proteazomu 26S na proteazom 20S (Robert et al. 1999).

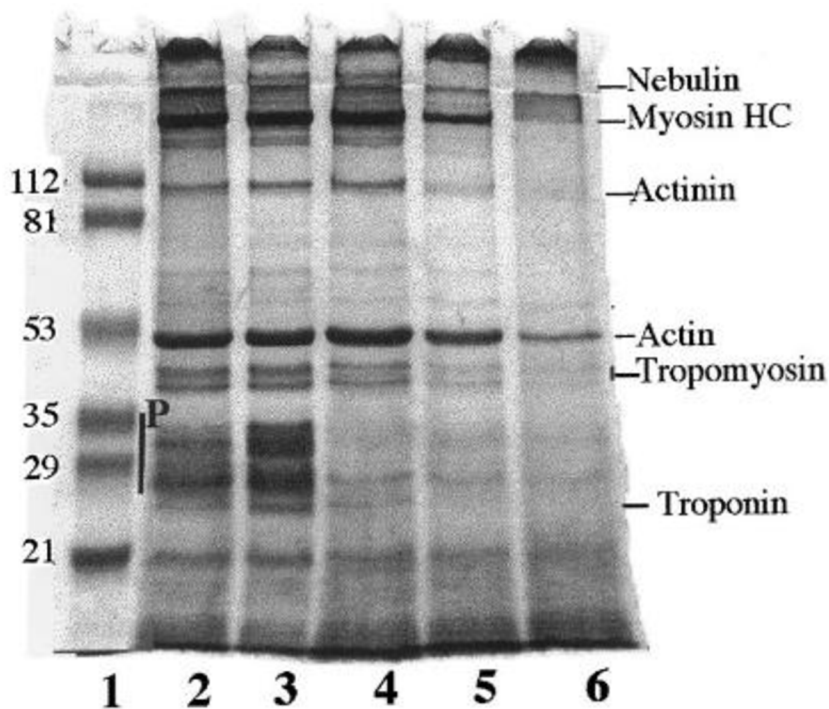


Obrázek 9: Schéma štěpení bílkovin v buněčném proteazomu

Zdroj: Tisančinová et al. 2007

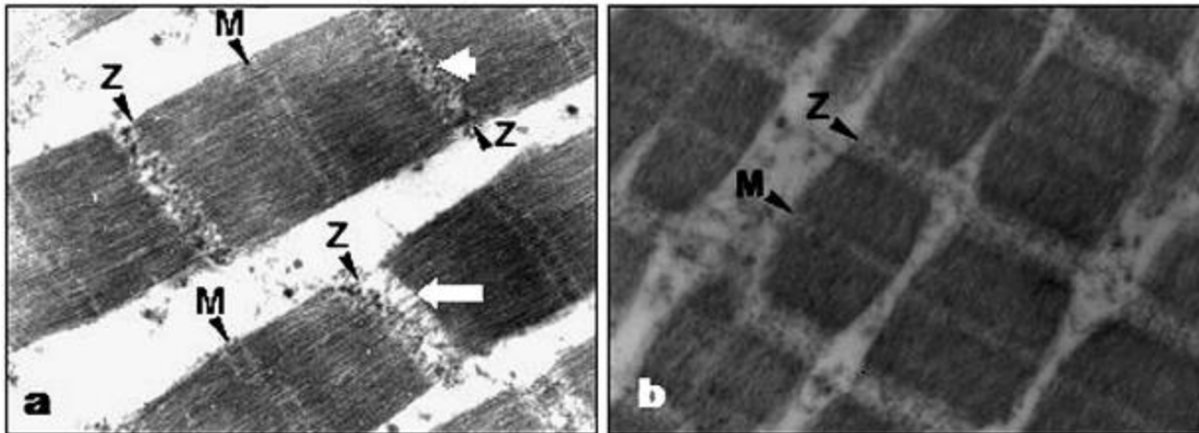
3.8.3.1 Systém proteazom a jeho možná úloha při křehnutí masa

Na základě chování proteazomu 20S byla provedena řada studií, které se zabývaly potencionální rolí tohoto enzymu v postmortální proteolýze. U hovězího masa bylo zjištěno, že proteazom může přispívat ke křehnutí masa a je schopen způsobit proteolýzu myofibrilárních bílkovin, včetně nebulinu, myozinu, aktinu a tropomyozinu (Taylor et al. 1995; Robert et al. 1999). Studie, která se zabývá touto skutečností, zkoumala hlavně vztah proteazomu s hovězími myofibrilami nebo svalovými vlákny permeabilizovanými glycerinem za určitých okolních podmínek. Důležitým faktorem je pH 7,4 pufru KCl, jelikož je proteazom v těchto podmínkách aktivní vůči purifikovaným proteinům a svalové myofibrily mají dobře definovanou strukturu. Ve srovnání s podobnými studiemi, které se zabývaly změnou struktury svalu, způsobenou kalpainy či katepsiny, proteazom působí pomaleji a v provedených změnách je méně specifický (Taylor et al. 1995). Elektroforetickou analýzu myofibril inkubovaných s proteazomy 20S po dobu 0, 4 a 24 hodin a pozdější centrifugaci ukazuje obrázek 10.



Obrázek 10: SDS-PAGE (nutný k aktivaci proteazomu) myofibril inkubovaných s proteazomy. Pruh 1: standardní proteiny o molekulové hmotnosti. Pruhy 2 a 3: myofibrily inkubované s denaturovanými proteazomy po dobu 4 a 0 hodin. Písmeno P v pruzích 2 a 3 označuje pásy odpovídající nerozpustným tepelně denaturovaným proteazomům, které sedimentují při centrifugaci. Dráhy 4-6: myofibrily inkubované s aktivními proteazomy po dobu 0, 4 a 24 h.

Dutaud et al. (2006) se ve své studii zabývá proteolytickými účinky proteazomu 20S a přezkoumává jej pomocí ultrastrukturálního přístupu. Jeho cílem bylo vysvětlit určité konkrétní strukturální změny ve svalectech typu I a v mase s vysokým pH. U obou vzorků při jejich stárnutí pozoroval změny v tloušťce Z linie, která značně narůstala, přičemž následovala její degradace. Strukturální změny svalových vláken po působení purifikovaného proteazomu 20S po dobu 8 hodin a 24 hodin jsou patrné z obrázku 11. Z provedené studie vyplynulo, že proteazom 20S byl schopen napodobit tyto sekvenční a strukturální změny, což je vlastnost, která zatím nebyla pozorována ani u kalpainů ani u katepsinů.



Obrázek 11: Strukturální změny svalových vláken po působení purifikovaného proteazomu 20S po dobu 8 hodin (a) a 24 hodin (b). V levé části obrázku (a) si lze všimnout částečné degradace proteinové struktury a částečné fragmentace myofibril. V pravé části obrázku (a) lze pozorovat úplnou ztrátu Z-linie (Z) a M-linie (M) a také výraznou změnu v uspořádání tenkých vláken v pásu I.

Zdroj: Dutaud et al. 2006

3.8.4 Kaspázy

Kaspázy jsou cystein-aspartát specifické proteázy, které umožňují proteolýzu spojenou s účinným nastolením apoptózy (Lana & Zolla 2016). Apoptóza je řízený rozpad buňky, charakteristický buněčným smršťováním, fragmentací DNA a tvorbou apoptotických tělísek bez vyvolání zánětlivé reakce (Kemp et al. 2010). Teprve nedávno se o apoptóze začalo uvažovat v souvislosti s přeměnou svaloviny na maso, přičemž vzrostl zájem o možné zapojení apoptotických mechanismů do procesu přeměny svaloviny na maso, vzhledem k řadě vědeckých a ekonomických důsledků (Lana & Zolla 2016). Zapojení kaspáz do apoptózy je prokázáno i díky inhibitorům kaspáz, které účinně zabraňují apoptóze. V této souvislosti se uvažuje o tom, že jsou kaspázy odpovědné za většinu proteolytického štěpení, které vede k buněčné smrti a nedostatky v expresi kaspáz mohou způsobovat defekty v apoptóze (Chang & Yang 2000).

Kaspázy, které se zapojují do apoptózy, lze dělit na iniciační nebo efektorové, v závislosti na jejich umístění v dráze buněčné smrti. Mezi iniciační kaspázy lze zařadit kaspázy 8, 9, 10 a 12 a mezi efektorové řadíme kaspázy 3, 6 a 7 (Earnshaw et al. 2003). Dnes je známo přibližně 14 kaspáz, vyskytujících se v různých typech tkání, avšak výjimkou je kaspáza 13, která byla dosud prokázána pouze u skotu a kaspáza 11, jež byla detekována pouze u krys a myši (Kemp & Parr 2012; Kameník et al. 2014).

3.8.4.1 Aktivace a regulace kaspáz

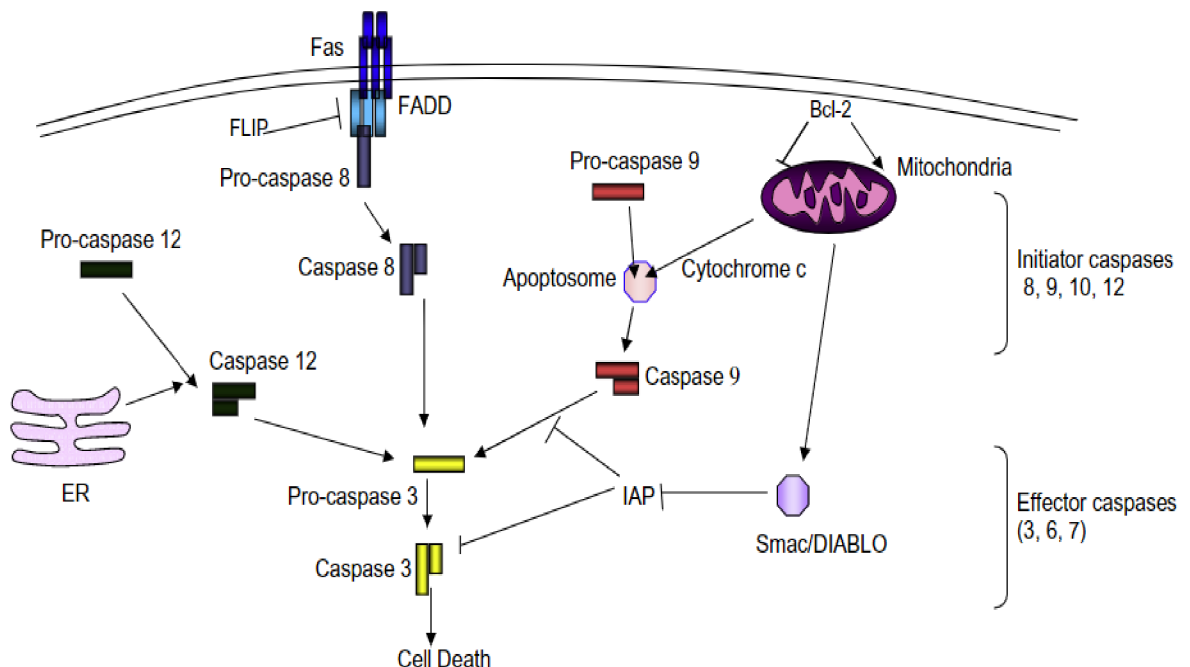
Aktivace apoptózy kaspázami je umožněna dvoustupňovou signální dráhou zahrnující apikální (iniciátorové) kaspázy, které se aktivují v reakci na apoptotické podněty a exekuční (efektorové) kaspázy, které jsou aktivovány apikálními kaspázami (Earnshaw et al. 2003; Kemp & Parr 2012).

Aktivace kaspáz je umožněna třemi hlavními cestami, které jsou znázorněny na obrázku 12. Vnější cesta je spouštěna díky receptorům na povrchu buněk a umožňuje aktivaci iniciačních kaspáz 8 a 10. Vnitřní cesta souvisí s reakcí na enviromentální stres a zahrnuje kaspázu 9. Další cesta je zprostředkována endoplazmatickým retikulem a její aktivace souvisí také se stresem (Boatright & Salvesen 2003; Earnshaw et al. 2003). Buněčná smrt a apoptotická kaskáda na endoplazmatickém retikulu přímo souvisí s kaspázou 12 (Nakagawa et al. 2000).

Exekuční kaspázy jsou aktivovány pomocí iniciačních kaspáz díky štěpení linkerové jednotky oddělující velkou a malou podjednotku jejich katalytické domény. Kaspázy 3 a 7 mají vysokou homologii, která se týká substrátové a inhibiční specifity, ale liší se ve svých doménách (Boatright & Salvesen 2003; Denault & Salvesen 2008).

Neúmyslná aktivace kaspáz může mít nepříznivé a devastující účinky, proto je důležitá její regulace, aby se zabránilo nevhodné apoptóze. Na regulaci se podílí řada mechanismů, přičemž způsob závisí na povaze počátečního podnětu (Earnshaw et al. 2003). Mezi účinné regulátory můžeme řadit skupinu Bcl-2, FLIPs či IAPs (Kemp & Parr 2012).

IAP jsou jedním z nejdůležitějších kontrolních bodů apoptózy, jelikož se vážou přímo na specifické kaspázy, přičemž jejich domény BIR je funkčně sekvestrují (Kemp & Parr, 2012).



Obrázek 12: Schéma cest apoptózy se znázorněním kaspáz zapojených do jednotlivých cest (FADD - fas associated deathdomain, IAP - inhibitor apoptózy, Smac - sekundární mitochondriální aktivátor kaspáz, DIABLO - přímý protein vázající IAP s nízkým pI)

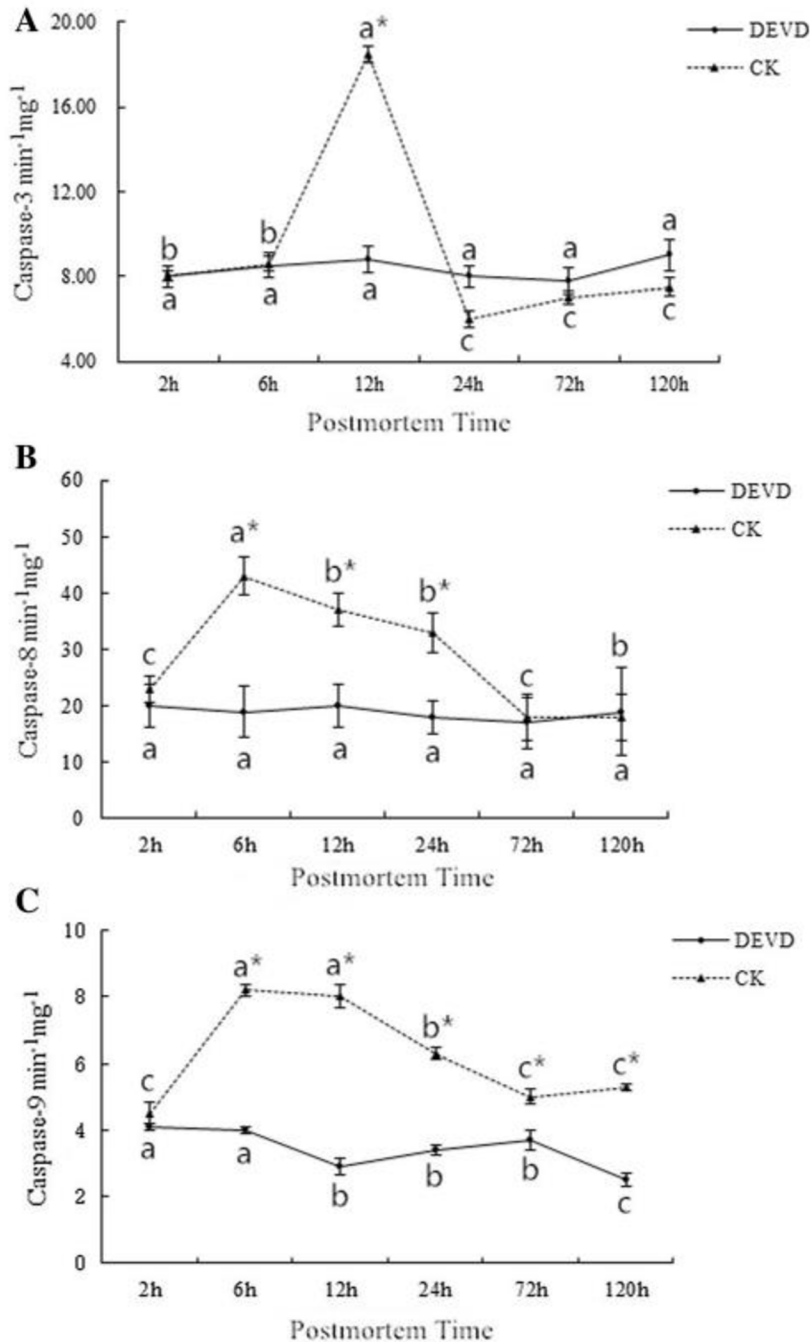
Zdroj: Holčík 2002

3.8.4.2 Apoptóza v souvislosti s postmortálními změnami ve svalovině

V současné době existují hypotézy, že po porážce a vykrvení může docházet k aktivaci kaspáz a apoptózy v kosterním svalu vlivem hypoxických či ischemických podmínek (Herrera-Mendez et al. 2006). Studie, které zkoumaly souvislost buněčné smrti a kaspázové aktivity během postmortálních změn, došly k závěru, že regulace antiapoptotických vlastností DNAJA1, Hsp70 a Hsp27 by mohla mít příznivý vliv na zvýšení křehkosti masa (Kemp & Parr 2012).

Apoptózou rozumíme programovanou buněčnou smrt, přičemž při posmrtné přeměně svaloviny v maso může apoptóza sehrát významnou roli a být prvním krokem k této přeměně a její další kroky mohou vyvolávat vnitřní změny (Chen et al. 2011; Yayuan et al. 2022). V současnosti se mnoho studií zabývá apoptotickými mechanismy, ale i degradací myofibrilárních proteinů, které se podílejí na výsledném zrání masa po porážce (Yayuan et al. 2022). Yayuan et al. (2022) ve své studii zkoumal potenciální vliv kaspáz na postmortální proteolýzu a křehnutí v jačím mase. Jako vzorek sloužil jačí *m. longissimus*, který byl injektován AC-DEVD-CHO⁷ v poměru 1:1 a poté skladován při teplotě 4 °C po dobu 2, 6, 12, 24, 72 a 120 hodin. Výsledkem je výrazná blokáde morfologických změn u svalových vláken, což neprospívá následné degradaci bílkovin. V případě, kdy byla inhibována aktivita kaspázy 3, byla ovlivněna i aktivita kaspáz 8 a 9, přičemž byl ovlivněn i energetický metabolismus. V případě, kdy kaspáza 3 inhibována nebyla, snížila se a následně i zvýšila hodnota pH, dále se zlepšila barva a retence vody, došlo k pozoruhodné degradaci bílkovin skeletu svalových vláken a zlepšila se i výsledná křehkost. Aktivity kaspázy 3, kaspázy 8 a kaspázy 9 jsou znázorněny na obrázku 13.

⁷ Specifický inhibitor kaspázy 3



Obrázek 13: Aktivity kaspázy 3, kaspázy 8 a kaspázy 9 vyjádřené jako násobné zvýšení oproti kontrolní skupině. Aktivity kaspázy 3 (A), kaspázy 8 (B) a kaspázy 9 (C) v mase jaků obou skupin skladovaných při teplotě 4 °C po dobu 0, 6, 12, 24, 72 a 120 hodin.

Zdroj: Yayuan et al. 2022

Chen et al. (2011) se ve své studii zabýval taktéž možným vztahem apoptózy a kaspáz v souvislosti s křehnutím masa. V této studii byly použity induktory apoptózy kamptothecin a etoposid, a také Ca^{2+} k ošetření svaloviny kuřete ihned po porážce a následném pozorování změn aktivity kaspázy 3 a změn v myofibrilárních strukturách během 7 dnů. Všechna tři ošetření významně zvýšila aktivitu kaspázy 3 během skladování, přičemž nejvíce účinné bylo

ošetření Ca^{2+} , avšak všechny byly neaktivnější do 3. dne. Výsledná zjištění ukázala, že tyto induktory apoptózy mohou zvýšit disociaci myofibril a proteolýzu během prvních tří dnů po porážce u kuřete a vzhledem k vysoké aktivitě kaspázy 3 je patrné, že přispívá k postmortální přeměně svaloviny v maso.

3.8.5 Peptidázy a proteolýza

Výsledná křehkost masa je velmi pravděpodobně důsledkem působení endogenních peptidáz na myofibrilární strukturu, a to zejména katepsinů, kalpainů či proteazomu. Kalpains byly dosud považovány za nejvýznamnější proteolytický systém v souvislosti s postmortálním křehnutím masa (Sentandreu et al. 2002; Herrera-Mendez et al. 2006). Pokud však budeme brát v potaz zavedení programované buněčné smrti, prvními aktivními peptidázami po vykrvení zvířete jsou kaspázy. Vzhledem k tomu, že se kaspázy specializují na destrukci buněk, pravděpodobně nejprve degradují klíčové proteiny, které se podílejí na prostorové organizaci ve svalových buňkách a následně bude pokračovat hydrolýza buněčných složek a organel s pravděpodobným přispěním dalších proteolytických systémů, jako jsou kalpains, katepsiny a proteazomy. V postmortálním svalu bude tento proces pravděpodobně probíhat velmi podobně, avšak vzhledem k změnám fyzikálně chemických podmínek bude rozsah buněčného poškození méně rozsáhlý (Herrera-Mendez et al. 2006).

4 Závěr

Maso hraje v lidské výživě důležitou roli, zejména pro své jedinečné nutriční složení. Už z historických souvislostí je patrné, že konkrétně maso přispělo značnou mírou k evolučnímu a fyziologickému vývoji člověka, protože sloužilo jako zdroj plnohodnotných bílkovin a podílelo se tak na sofistikovanějším vývoji vyšší nervové soustavy. V dnešní době je maso taktéž neopomenutelnou součástí jídelníčku lidstva po celém světě i přes svou kontroverzní povahu vzhledem k veganům a vegetariánům. V souvislosti se stále zvyšujícím se zalidněním roste také spotřeba i produkce masa, přičemž jedním z největších konzumentů je především USA, kde je roční spotřeba na obyvatele až 120 kg.

Aby bylo maso požitelné a splňovalo u konzumentů požadovanou křehkost a další žádoucí vlastnosti, musí takzvaně vyžrát. Zrání masa lze charakterizovat jako poporážkovou přeměnu svaloviny v maso. Bezprostředně po porážce začínou v maso probíhat postmortální procesy, které lze dělit do několika fází. V první fázi *prae rigor* se maso vyznačuje vysokou vazností a jeho pH se pohybuje v poměrně neutrální oblasti, až do chvíle, než jsou vyčerpány zásoby glykogenu a začne klesat koncentrace ATP. V tomto momentě nastává *rigor mortis*. V této fázi dochází k tomu, že aktin ani myozin nejsou schopny se udržet v disociovaném stavu a spojí se v tzv. aktinomyozinový komplex. V důsledku tvorby kyseliny mléčné postupně začne klesat pH a maso se tak stává nevhodným ke konzumaci i zpracování. V poslední fázi maso přestává být tuhé a mírně začne vzrůstat i pH. Tato poslední fáze je označována jako zrání masa, přičemž pro každý druh masa je tento úsek jinak dlouhý a důležitou roli zde hraje i teplota při skladování. Pokud se však maso bude skladovat příliš dlouho, může dojít k nežádoucí hluboké autolýze a rozkladu bílkovin, kdy maso nepříjemně zapáchá a je snadno přístupné pro mikrobiální napadení.

K tomu, aby maso vykazovalo příznivé organoleptické a sensorické vlastnosti, napomáhají svým účinkem během zrání i proteolytické enzymy. Většina studií se shoduje na tom, že jedny z nejvýznamnějších proteáz jsou kalpainy. Jejich funkce je závislá na vápenatých iontech, které dopomáhají ke konformačnímu posunu a disociaci heterodimeru kalpainu, což se projevuje i v počátku postmortálních změn. Určitá funkce při zrání masa se připisuje taktéž katepsinům, kaspázám a proteazomu. Kaspázy jsou spojovány s funkcí, která umožňuje zahájit proteolýzu s účinným nastolením apoptózy. Katepsiny jsou jako proteolytické enzymy poněkud kontroverzní, jelikož řada vědců se přiklání k tomu, že účinky kalpainů a katepsinů nelze ve své podstatě zcela odlišit, avšak některé studie účinky katepsinů při zrání masa potvrzují v tom smyslu, že katepsiny mohou působit jako proteázy, díky postupnému narušování lysozomů. Systém proteazom je místem, kde dochází ke štěpení bílkovin, přičemž tato proteolýza je závislá na ubikvitinu. Některé studie uvádí, že se proteazom může svým účinkem podílet na proteolýze nebulinu, myozinu, aktinu či tropomyozinu, přičemž tento účinek je vysvětlen specifickými strukturálními změnami ve svalu, které nemohly být způsobeny ani kalpainy, ani katepsiny.

Je však patrné, že konkrétní účinky těchto proteáz nelze jednoznačně potvrdit ani vyvrátit, jelikož ve většině studií je uvedena značná potřeba k provedení dalších výzkumů, které by detailněji objasnili funkci a význam těchto proteolytických enzymů v procesu zrání masa.

5 Literatura

- Ahmed A, Arshad MS, Imran A, Ali SW. 2018. Introductory Chapter: Meat Science and Human Nutrition. *Meat Science and Nutrition* DOI: 10.5772/intechopen.81001. InTech.
- Akasaka-Manyá K, Manyá H, Endo T. 2016. Function and Change with Aging of α -Klotho in the Kidney. *Vitamins and Hormones* **101**:239–256. Academic Press Inc.
- AL-Khayat HA, Morris EP, Kensler RW, Squire JM. 2008. Myosin filament 3D structure in mammalian cardiac muscle. *Journal of Structural Biology* **163**:117–126. Academic Press.
- Anderson MJ, Lonergan SM, Fedler CA, Prusa KJ, Binning JM, Huff-Lonergan E. 2012. Profile of biochemical traits influencing tenderness of muscles from the beef round. *Meat Science* **91**:247–254.
- Bellavia A, Larsson SC, Bottai M, Wolk A, Orsini N. (2014). Differences in survival associated with processed and with nonprocessed red meat consumption 1-3 DOI: 10.3945/ajcn.114.086249. Available from <https://academic.oup.com/ajcn/article/100/3/924/4576557>.
- Bernard C, Cassar-Malek I, le Cunff M, Dubroeuq H, Renand G, Hocquette JF. 2007. New indicators of beef sensory quality revealed by expression of specific genes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**:5229–5237. American Chemical Society. Available from <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf063372l> (accessed December 1, 2022).
- Bhat ZF, Morton JD, Mason SL, Bekhit AEDA. 2018. Role of calpain system in meat tenderness: A review. *Food Science and Human Wellness* **7**:196–204. Elsevier B.V.
- Binke, R. Vom Muskel zum Fleisch. *Fleischwirtschaft*. 2004. 84, 224-227.
- Boatright KM, Salvesen GS. 2003a. Mechanisms of caspase activation. *Current Opinion in Cell Biology* **15**:725–731. Elsevier Current Trends.
- Boatright KM, Salvesen GS. 2003b. Mechanisms of caspase activation. *Current Opinion in Cell Biology* **15**:725–731. Elsevier Current Trends.
- Bottinelli R, Betto R, Schiaffino S, Reggiani C. 1994. Unloaded shortening velocity and myosin heavy chain and alkali light chain isoform composition in rat skeletal muscle fibres. *The Journal of Physiology* **478**:341–349.
- Bureš, Daniel, Luděk Bartoň a Nicole Lebedová. Inovační postupy při produkci a zpracování hovězího masa. [Praha]: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2020. ISBN 978-80-7403-245-5.

- Calkins CR, Seideman SC. 1988. Relationships among Calcium-Dependent Protease, Cathepsins B and H, Meat Tenderness and the Response of Muscle to Aging. *Journal of Animal Science* **66**:1186–1193. Oxford Academic. Available from <https://academic.oup.com/jas/article/66/5/1186/4695714> (accessed January 26, 2023).
- Camou JP, Marchello JA, Thompson VF, Mares SW, Goll DE. 2007. Effect of postmortem storage on activity of μ - and m-calpain in five bovine muscles. *Journal of Animal Science* **85**:2670–2681. Oxford Academic. Available from <https://academic.oup.com/jas/article/85/10/2670/4789045> (accessed January 21, 2023).
- Chang HY, Yang X. 2000. Proteases for Cell Suicide: Functions and Regulation of Caspases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **64**:821–846. American Society for Microbiology. Available from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/MMBR.64.4.821-846.2000> (accessed February 8, 2023).
- Chen L, Feng XC, Lu F, Xu XL, Zhou GH, Li QY, Guo XY. 2011. Effects of camptothecin, etoposide and Ca²⁺ on caspase-3 activity and myofibrillar disruption of chicken during postmortem ageing. *Meat Science* **87**:165–174. Elsevier.
- Chéret R, Delbarre-Ladrat C, Lamballerie-Anton M de, Verrez-Bagnis V. 2007. Calpain and cathepsin activities in post mortem fish and meat muscles. *Food Chemistry* **101**:1474–1479.
- Chin SF, Liu W, Storkson JM, Ha YL, Pariza MW. 1992. Dietary sources of conjugated dienoic isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. *Journal of Food Composition and Analysis* **5**:185–197.
- Choi YM, Kim BC. 2009. Muscle fiber characteristics, myofibrillar protein isoforms, and meat quality. *Livestock Science* **122**:105–118. Elsevier.
- Claus JR, Sørheim O. 2006. Preserving pre-rigor meat functionality for beef patty production. *Meat Science* **73**:287–294.
- Cooper J v, Suman SP, Burdick KS, Sutovsky P, Lonergan SM, Lorenzen CL. 2022. Color attributes and myoglobin chemistry exhibit relationships with tenderness and calpain-1 abundance in postmortem Longissimus lumborum muscles from Holstein heifers. *Meat Science* **189**:108824. Available from <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108824> (accessed January 21, 2023).
- Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. 2003. STRUCTURE AND FUNCTIONS OF THE 20S AND 26S PROTEASOMES. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.65.070196.004101> **65**:801–847. *Annual Reviews* 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA . Available from <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.bi.65.070196.004101> (accessed January 27, 2023).

- Croall DE, Demartino GN. 1991. Calcium-activated neutral protease (calpain) system: structure, function, and regulation. <https://doi.org/10.1152/physrev.1991.71.3.813> **71**:813–847. Available from <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/physrev.1991.71.3.813> (accessed December 1, 2022).
- Cruzen SM, Paulino PVR, Lonergan SM, Huff-Lonergan E. 2014. Postmortem proteolysis in three muscles from growing and mature beef cattle. *Meat Science* **96**:854–861. Elsevier.
- Dahlmann B, Ruppert T, Kloetzel PM, Kuehn L. 2001. Subtypes of 20S proteasomes from skeletal muscle. *Biochimie* **83**:295–299. Elsevier.
- Dalle Zotte A, Szendro Z. 2011. The role of rabbit meat as functional food. *Meat Science* **88**:319–331.
- Dell'angelica EC, Mullins C, Caplan S, Bonifacino JS. 2000. Lysosome-related organelles; Lysosome-related organelles. *FASEB J* **14**:1265–1278. Available from <https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fasebj.14.10.1265> (accessed January 26, 2023).
- Denault J-B, Salvesen GS. 2008. Apoptotic Caspase Activation and Activity. *Apoptosis and Cancer*:191–220. Humana Press. Available from https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59745-339-4_15 (accessed February 8, 2023).
- Djinovic-Stojanovic JM, Nikolic DM, Vranic D V., Babic JA, Milijasevic MP, Pezo LL, Jankovic SD. 2017. Zinc and magnesium in different types of meat and meat products from the Serbian market. *Journal of Food Composition and Analysis* **59**:50–54. Academic Press.
- Dufour E, Dive V, Toma F. 1988. Delineation of chicken cathepsin L secondary structure; relationship between pH dependence activity and helix content. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology* **955**:58–64. Elsevier.
- Dutaud D, Aubry L, Guignot F, Vignon X, Monin G, Ouali A. 2006. Bovine muscle 20S proteasome. II: Contribution of the 20S proteasome to meat tenderization as revealed by an ultrastructural approach. *Meat Science* **74**:337–344. Elsevier.
- Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. 2003. Mammalian Caspases: Structure, Activation, Substrates, and Functions During Apoptosis. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.68.1.383> **68**:383–424. Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA . Available from <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biochem.68.1.383> (accessed January 31, 2023).

- Eggert JM, Depreux FFS, Schinckel AP, Grant AL, Gerrard DE. 2002. Myosin heavy chain isoforms account for variation in pork quality. *Meat Science* **61**:117–126.
- Elce JS, Davies PL, Hegadorn C, Maurice DH, Arthur JSC. 1997. The effects of truncations of the small subunit on m-calpain activity and heterodimer formation. *Biochemical Journal* **326**:31–38. Portland Press. Available from /biochemj/article/326/1/31/33727/The-effects-of-truncations-of-the-small-subunit-on (accessed December 9, 2022).
- Enser M, Hallett K, Hewitt B, Fursey GAJ, Wood JD. 1996. Fatty acid content and composition of English beef, lamb and pork at retail. *Meat Science* **42**:443–456. Elsevier Ltd.
- Fraterman S, Zeiger U, Khurana TS, Wilm M, Rubinstein NA. 2007. Quantitative proteomics profiling of sarcomere associated proteins in limb and extraocular muscle allotypes. *Molecular and Cellular Proteomics* **6**:728–737. Elsevier. Available from <http://www.mcponline.org/article/S1535947620317515/fulltext> (accessed February 12, 2023).
- Frontera WR, Ochala J. 2015. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Behavior Genetics* **45**:183–195. Springer New York LLC. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s00223-014-9915-y> (accessed February 12, 2023).
- Gagaoua M, Hughes J, Terlouw EMC, Warner RD, Purslow PP, Lorenzo JM, Picard B. 2020. Proteomic biomarkers of beef colour DOI: 10.1016/j.tifs.2020.05.005. Available from <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.005> (accessed January 21, 2023).
- Geissler C, Singh M. 2011. Iron, Meat and Health. *Nutrients* 2011, Vol. 3, Pages 283-316 **3**:283–316. Molecular Diversity Preservation International. Available from <https://www.mdpi.com/2072-6643/3/3/283/htm> (accessed March 6, 2023).
- Godfray HCJ, Aveyard P, Garnett T, Hall JW, Key TJ, Lorimer J, Pierrehumbert RT, Scarborough P, Springmann M, Jebb SA. 2018. Meat consumption, health, and the environment. *Science (New York, N.Y.)* **361**. American Association for the Advancement of Science. Available from <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aam5324> (accessed March 26, 2023).
- González N, Marquès M, Nadal M, Domingo JL. 2020. Meat consumption: Which are the current global risks? A review of recent (2010–2020) evidences. *Food Research International* **137**:109341. Elsevier.
- Hanna RA, Campbell RL, Davies PL. (2008). LETTERS Calcium-bound structure of calpain and its mechanism of inhibition by calpastatin DOI: 10.1038/nature07451.
- Herrera-Mendez CH, Becila S, Boudjellal A, Ouali A. 2006. Meat ageing: Reconsideration of the current concept. *Trends in Food Science & Technology* **17**:394–405. Elsevier.

- Holcik M. 2002. The IAP proteins. *Trends in Genetics* **18**:537–538. Elsevier Ltd. Available from <http://www.cell.com/article/S0168952502027439/fulltext> (accessed January 31, 2023).
- Hosfield CM, Elce JS, Davies PL, Jia Z. 1999. Crystal structure of calpain reveals the structural basis for Ca²⁺-dependent protease activity and a novel mode of enzyme activation. *The EMBO Journal* **18**:6880–6889. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1093/emboj/18.24.6880> (accessed December 9, 2022).
- Huff Lonergan E, Zhang W, Lonergan SM. 2010. Biochemistry of postmortem muscle-Lessons on mechanisms of meat tenderization DOI: 10.1016/j.meatsci.2010.05.004.
- Ilian MA, Bickerstaffe R, Greaser ML. 2004. Postmortem changes in myofibrillar-bound calpain 3 revealed by immunofluorescence microscopy. *Meat Science* **66**:231–240. Elsevier.
- Jurie C, Picard B, Geay Y. 1999. Changes in the metabolic and contractile characteristics of muscle in male cattle between 10 and 16 months of age. *Histochemical Journal* **31**:117–122. Springer. Available from <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1003589320910> (accessed February 19, 2023).
- Kameník, Josef. Maso jako potravina: produkce, složení a vlastnosti masa. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, 2014. ISBN 978-80-7305-673-5.
- Kameník J. 2016. Zralé maso-chutné maso. *Vesmír*. Available from <https://vesmir.cz/cz/on-line-clanky/2016/08/zrale-maso-chutne-maso.html>
- Karlsson AH, Klont RE, Fernandez X. 1999. Skeletal muscle fibres as factors for pork quality. *Livestock Production Science* **60**:255–269.
- Kemp CM, Parr T. 2012. Advances in apoptotic mediated proteolysis in meat tenderisation DOI: 10.1016/j.meatsci.2012.03.013.
- Kemp CM, Sensky PL, Bardsley RG, Buttery PJ, Parr T. (2010.). Tenderness – An enzymatic view. *Meat Science* **84**:248–256.
- Kirschke H, Wiederanders B, Bromme D, Rinne A. 1989. Cathepsin S from bovine spleen. Purification, distribution, intracellular localization and action on proteins. *Biochemical Journal* **264**:467–473. Portland Press. Available from </biochemj/article/264/2/467/25292/Cathepsin-S-from-bovine-spleen-Purification> (accessed January 23, 2023).
- Klont RE, Brocks L, Eikelenboom G. 1998. Muscle fibre type and meat quality. *Meat Science* **49**. Elsevier Ltd.

- Koohmaraie M. 1996. Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science* **43**:193–201. Elsevier.
- Koohmaraie M, Geesink GH. 2006. Contribution of postmortem muscle biochemistry to the delivery of consistent meat quality with particular focus on the calpain system. *Meat Science* **74**:34–43. Elsevier.
- Koohmaraie M, Seideman SC, Schollmeyer JE, Dutson TR, Babiker AS. (1988). Factors Associated with the Tenderness of Three Bovine Muscles DOI: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb07717.x. Available from <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1988.tb07717.x> (accessed January 24, 2023).
- Kornfeld S, Mellman I. 2003. The Biogenesis of Lysosomes. <https://doi.org/10.1146/annurev.cb.05.110189.002411> **5**:483–525. Annual Reviews 4139 El Camino Way, P.O. Box 10139, Palo Alto, CA 94303-0139, USA . Available from <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.cb.05.110189.002411> (accessed January 26, 2023).
- Kouba M, Sellier P. 2011. A review of the factors influencing the development of intermuscular adipose tissue in the growing pig. *MESC* **88**:213–220.
- Lana A, Zolla L. 2016. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective. *Journal of Proteomics* **147**:85–97. Elsevier.
- Lefaucheur L. 2010. A second look into fibre typing – Relation to meat quality. *Meat Science* **84**:257–270. Elsevier.
- Lloyd JB, Mason RW. 1996. *Biology of the Lysosome*:436. Springer US. Available from https://books.google.com/books/about/Biology_of_the_Lysosome.html?hl=cs&id=Csv4BwAAQBAJ (accessed January 23, 2023).
- Lombardi-Boccia G, Lanzi S, Aguzzi A. 2005. Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *Journal of Food Composition and Analysis* **18**:39–46. Academic Press.
- Lozano M, Rodríguez-Ulibarri P, Echeverría JC, Beruete & M, Sorolla & M, Beriain MJ. (2017). Mid-Infrared Spectroscopy (MIR) for Simultaneous Determination of Fat and Protein Content in Meat of Several Animal Species DOI: 10.1007/s12161-017-0879-1.
- Mellgren RL. 2019. The Structure of Calpains and the Calpain Gene:25–35. CRC Press. Available from <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781351073813-3/structure-calpains-calpain-gene-koichi-suzuki> (accessed December 4, 2022).

- Mestre Prates JA, nio MaÂ rio Ribeiro AR, nio Dias Correia AA. (2001). Role of cysteine endopeptidases (EC 3.4.22) in rabbit meat tenderisation and some related changes. Available from www.elsevier.com/locate/meatsci (accessed January 24, 2023).
- Mikami M, Whiting AH, Taylor MAJ, Maciewicz RA, Etherington DJ. 1987. Degradation of myofibrils from rabbit, chicken and beef by cathepsin I and lysosomal lysates. *Meat Science* **21**:81–97. Elsevier.
- Moeller Pw, Fields Pa, Dutson TR, Landmann WA, Carpenter ZL. 1977. High temperature effects on lysosomal enzyme distribution and fragmentation of bovine muscle. *Journal of Food Science* **42**:510–512. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2621.1977.tb01534.x> (accessed January 26, 2023).
- Moldoveanu T, Hosfield CM, Lim D, Elce JS, Jia Z, Davies PL. 2002. A Ca²⁺ switch aligns the active site of calpain. *Cell* **108**:649–660. Elsevier B.V.
- Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J. 2000. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- β . *Nature* 2000 **403**:6765 **403**:98–103. Nature Publishing Group. Available from <https://www.nature.com/articles/47513> (accessed February 8, 2023).
- Novotný T. 2022. Spotřeba potravin v ČR za rok 2021. Aktin.
- Nowak D. 2011. Enzymes in tenderization of meat - The system of calpains and other systems - a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* **61**. -. Available from <http://journal.pan.olsztyn.pl> (accessed December 1, 2022).
- O'Halloran GR, Troy DJ, Buckley DJ, Reville WJ. 1997. The role of endogenous proteases in the tenderisation of fast glycolysing muscle. *Meat Science* **47**:187–210. Elsevier.
- Ohkuma S, Poole B. 1978. Fluorescence probe measurement of the intralysosomal pH in living cells and the perturbation of pH by various agents. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **75**:3327–3331. Proceedings of the National Academy of Sciences. Available from <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.75.7.3327> (accessed January 26, 2023).
- Ordway GA, Garry DJ. 2004. Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle. *Journal of Experimental Biology* **207**:3441–3446. The Company of Biologists. Available from <https://journals.biologists.com/jeb/article/207/20/3441/14904/Myoglobin-an-essential-hemoprotein-in-striated> (accessed January 21, 2023).
- Ouali A. 1999. Structure and biochemistry of muscle as related to meat texture DOI: 10.3/JQUERY-UIJS. Available from <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2021029910> (accessed January 23, 2023).

- Ouali A, Hernan Herrera-Mendez C, Coulis G, Becila S, Boudjellal A, Aubry L, Sentandreu MA. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms DOI: 10.1016/j.meatsci.2006.05.010. Available from www.elsevier.com/locate/meatsci (accessed November 20, 2022).
- Parr T, Jewell KK, Sensky PL, Brameld JM, Bardsley RG, Buttery PJ. 2004. Expression of calpastatin isoforms in muscle and functionality of multiple calpastatin promoters. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **427**:8–15. Academic Press.
- Perrin BJ, Huttenlocher A. 2002. Calpain. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* **34**:722–725. Pergamon.
- Peters JM, Franke WW, Kleinschmidt JA. 1994. Distinct 19 S and 20 S subcomplexes of the 26 S proteasome and their distribution in the nucleus and the cytoplasm. *Journal of Biological Chemistry* **269**:7709–7718. Elsevier.
- Pipek, Petr. *Technologie masa I. 4. předpracované*. Praha: Doc. Ing. Petr Pipek, CSc., 1995, 334 s. ISBN 80-7080.
- Pomponio L, Lametsch R, Karlsson AH, Costa LN, Grossi A, Ertbjerg P. 2008. Evidence for post-mortem m-calpain autolysis in porcine muscle. *Meat Science* **80**:761–764.
- Purslow PP. 2005. Intramuscular connective tissue and its role in meat quality. *Meat Science* **70**:435–447. Elsevier.
- Raynaud P, Gillard M, Parr T, Bardsley R, Amarger V, Levéziel H. 2005. Correlation between bovine calpastatin mRNA transcripts and protein isoforms. *Archives of Biochemistry and Biophysics* **440**:46–53. Available from www.elsevier.com/locate/yabbi (accessed December 7, 2022).
- Riccio F, Mennella C, Fogliano V. 2006. Effect of cooking on the concentration of Vitamins B in fortified meat products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **41**:1592–1595.
- Robert N, Briand M, Taylor R, Briand Y. 1999. The effect of proteasome on myofibrillar structures in bovine skeletal muscle. *Meat Science* **51**:149–153. Elsevier.
- Schmid A, Collomb M, Sieber R, Bee G. 2006. Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. *Meat Science* **73**:29–41. Elsevier.
- Sentandreu MA, Coulis G, Ouali A. (2002). Role of muscle endopeptidases and their inhibitors in meat tenderness DOI: 10.1016/S0924-2244(02)00188-7.

- Sertel O, Dogdas B, Chiu CS, Gurcan MN. 2011. Microscopic image analysis for quantitative characterization of muscle fiber type composition. *Computerized Medical Imaging and Graphics* **35**:616–628.
- Shackelford SD, Koohmaraie M, Whipple G, Wheeler TL, Miller MF, Crouse JD, Reagan JO. 1991. Predictors of Beef Tenderness: Development and Verification. *Journal of Food Science* **56**:1130–1135. John Wiley & Sons, Ltd. Available from <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2621.1991.tb04718.x> (accessed January 23, 2023).
- Shyu DJH, Chyan CL, Tzen JTC, Chou WM. 2000. Effect of proteinases on the meat texture and seafood quality. *Food Sci. Agric. Chem.* **2**:55–74. Available from <https://cir.nii.ac.jp/crid/1570291225143647360> (accessed January 24, 2023).
- Stienen GJM, Kiers JL, Bottinelli R, Reggiani C. 1996. Myofibrillar ATPase activity in skinned human skeletal muscle fibres: Fibre type and temperature dependence. *Journal of Physiology* **493**:299–307. Cambridge University Press.
- Taillandier D, Combaret L, Pouch M-N, Samuels SE, Béchet D, Attaix D. 2004. The role of ubiquitin–proteasome-dependent proteolysis in the remodelling of skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society* **63**:357–361. Cambridge University Press. Available from <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/role-of-ubiquitinproteasomedependent-proteolysis-in-the-remodelling-of-skeletal-muscle/930EB0BC14FE5BBC887EADD4F3477187> (accessed January 27, 2023).
- Taylor RG, Tassy C, Briand M, Robert N, Briand Y, Ouali A. 1995. Proteolytic activity of proteasome on myofibrillar structures. *Molecular Biology Reports* **21**:71–73. Kluwer Academic Publishers. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/BF00990974> (accessed January 27, 2023).
- Tornberg E. 2005. Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science* **70**:493–508. Elsevier Ltd.
- Tornberg E. 2013. Engineering processes in meat products and how they influence their biophysical properties. *Meat Science* **95**:871–878. Elsevier.
- Turk B, an Turk D, Turk V. (2000). Lysosomal cysteine proteases: more than scavengers. Available from www.elsevier.com/locate/bba (accessed January 22, 2023).
- Turk B, Dolenc I, Lenarčič B, Križaj I, Turk V, Bieth JG, Björk I. 1999. Acidic pH as a physiological regulator of human cathepsin L activity. *European Journal of Biochemistry* **259**:926–932.

- Uytterhaegen L, Claeys E, Demeyer D. 1994. Effects of exogenous protease effectors on beef tenderness development and myofibrillar degradation and solubility. *Journal of Animal Science* **72**:1209–1223. Oxford Academic. Available from <https://academic.oup.com/jas/article/72/5/1209/4654442> (accessed January 26, 2023).
- Wittenberg JB, Wittenberg BA. 2003. Myoglobin function reassessed. *Journal of Experimental Biology* **206**:2011–2020. The Company of Biologists. Available from <https://journals.biologists.com/jeb/article/206/12/2011/9254/Myoglobin-function-reassessed> (accessed January 21, 2023).
- Wood JD, Enser M, Fisher A v., Nute GR, Sheard PR, Richardson RI, Hughes SI, Whittington FM. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* **78**:343–358. Elsevier.
- Wyness L. 2015. The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits DOI: 10.1017/S0029665115004267. Available from <https://doi.org/10.1017/S0029665115004267>.
- Xiong YL, Mullins OE, Stika JF, Chen J, Blanchard SP, Moody WG. 2007. Tenderness and oxidative stability of post-mortem muscles from mature cows of various ages. *Meat Science* **77**:105–113. Elsevier Ltd.
- Yayuan Y, Ling H, Qunli Y, Yongfang G, Hongmei S. 2022. Effects of caspase activity of yak meat and internal environment changing during aging. *Journal of Food Science and Technology* **59**:1362–1371. Springer. Available from <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-021-05145-x> (accessed March 29, 2023).
- Young JF, Therkildsen M, Ekstrand B, Che BN, Larsen MK, Oksbjerg N, Stagsted J. 2013. Novel aspects of health promoting compounds in meat. *Meat Science* **95**:904–911.

6 Seznam použitých zkratk a symbolů

AC-DEVD-CHO – specifický inhibitor kaspázy 3

ATP - adenosintrifosfát

Bcl-2 – skupina anti- a proapoptotických členů

BIR - baculovirální opakování IAP

DNAJA1 – gen

EFSA - Evropský úřad pro bezpečnost potravin

FLIPs (FLICE) - associated death domain-like IL-1 β -converting enzyme

HCW – hmotnost jatečně upraveného těla za tepla

Hsp27, Hsp70 – proteiny tepelného šoku, fungují jako prevence degradace a strukturálního poškození proteinů v důsledku apoptotických procesů v buňkách

IAP – inhibitor apoptózy

JUT – jatečně upravené tělo